

Aus dem Pathologischen Institut
der Justus Liebig-Universität Gießen
Lehrstuhl I (Direktor: Prof. Dr. J. Kracht)

**Untersuchungen zur Pathogenese der experimentellen
Adjuvans-Arthritis der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Manfred Nohl
aus Wetzlar

Giessen 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545915_0013

Aus dem Pathologischen Institut
der Justus Liebig-Universität Gießen
Lehrstuhl I (Direktor: Prof. Dr. J. Kracht)

**Untersuchungen zur Pathogenese der experimentellen
Adjuvans-Arthritis der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Manfred Nohl
aus Wetzlar

Giessen 1969

Dekan: Professor Dr. H. Rettig

Referent: Professor Dr. G. Beneke

Korreferent: Professor Dr. V. R. Ott



Tag der mündlichen Prüfung: 29. Juli 1969

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
<u>1,0 Einleitung</u>	1
<u>2,0 Fragestellung</u>	2
<u>3,0 Material und Methodik</u>	3
3,1 Material	3
3,11 Versuchstiere	3
3,12 FREUNDsches Adjuvans	4
3,2 Methodik	4
3,21 Haltung, Ernährung und Behandlung der Versuchstiere	4
3,211 Haltung und Ernährung der Ver- suchstiere	4
3,212 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,1	4
3,213 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,2	5
3,214 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,3	5
3,215 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,4	6
3,216 Behandlung der Versuchstiere der Versuche 4,5; 4,6; 4,7; 4,8	7
3,22 Aufarbeitung des Materials	7
3,221 Gelenkmessungen	7
3,222 Obduktion der Versuchstiere	7
3,223 Herstellung mikroskopischer Prä- parate	8
3,224 Herstellung von Häutchenpräparaten	8
3,2241 Herstellung von Häutchen- präparaten der Synovialmem- bran von Kniegelenken	8
3,2242 Herstellung von Häutchen- präparaten der Pleura	10

	<u>Seite</u>
3,225 Zytophotometrische Untersuchungen	10
3,226 Chemische Untersuchungen	11
3,2261 DNS-Bestimmung	11
3,2262 RNS-Bestimmung	12
3,2263 Polysaccharidbestimmung	13
3,2264 Proteinbestimmung	13
3,227 Statistische Untersuchungsmethoden	14
<u>4,0 Ergebnisse</u>	16
4,1 Intraplantare Injektion von komplettem FREUND- schem Adjuvans	16
4,11 Gelenke	16
4,111 Primärreaktionen	16
4,1111 Makroskopische Befunde	16
4,1112 Mikroskopische Befunde	17
4,112 Sekundärreaktionen	28
4,1121 Makroskopische Befunde	28
4,1122 Mikroskopische Befunde	30
4,113 Zytologische Untersuchungen an Syno- vialzellen	32
4,12 Regionäre Lymphknoten	40
4,121 Primärreaktionen	40
4,1211 Makroskopische Befunde	40
4,1212 Mikroskopische Befunde	40
4,122 Sekundärreaktionen	45
4,1221 Makroskopische Befunde	45
4,1222 Mikroskopische Befunde	45
4,123 Chemische Untersuchungen	49
4,13 Milz	52
4,131 Makroskopische Befunde	52
4,132 Mikroskopische Befunde	53
4,133 Chemische Untersuchungen	55
4,14 Veränderungen in anderen Organen	57
4,141 Lungen	57
4,1411 Makroskopische Befunde	57
4,1412 Mikroskopische Befunde	57

	<u>Seite</u>
4,142 Leber	58
4,143 Thymus	59
4,144 Körpergewicht	59
4,2 Intraplantare Injektion von komplettem FREUND- schem Adjuvans nach vorheriger Milzexstirpation	63
4,21 Gelenke	63
4,211 Primärreaktionen	63
4,2111 Makroskopische Befunde	63
4,2112 Mikroskopische Befunde	63
4,212 Sekundärreaktionen	64
4,2121 Makroskopische Befunde	64
4,2122 Mikroskopische Befunde	64
4,213 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen	65
4,22 Regionäre Lymphknoten	68
4,221 Primärreaktionen	68
4,2211 Makroskopische Befunde	68
4,2212 Mikroskopische Befunde	69
4,222 Sekundärreaktionen	70
4,2221 Makroskopische Befunde	70
4,2222 Mikroskopische Befunde	71
4,23 Veränderungen in anderen Organen	72
4,231 Lungen	72
4,232 Leber	73
4,233 Thymus	74
4,234 Körpergewicht	74
4,3 Untersuchungen zur Bedeutung der regionären Lymphknoten (Übertragung von Lymphozyten)	74
4,31 Gelenke	74
4,311 Makroskopische Befunde	74
4,312 Mikroskopische Befunde	75
4,32 Regionäre Lymphknoten	77
4,321 Makroskopische Befunde	77
4,322 Mikroskopische Befunde	77

4,33 Milz	78
4,331 Makroskopische Befunde	78
4,332 Mikroskopische Befunde	79
4,34 Veränderungen in anderen Organen	80
4,341 Lungen	80
4,342 Leber, Thymus	81
4,343 Körpergewicht	82
4,4 Intraplantare Injektion von komplettem FREUND- schem Adjuvans nach Vorbehandlung mit Poly-2- vinylpyridin-N-oxid (P 204)	82
4,41 Gelenke	82
4,411 Primärreaktionen	82
4,4111 Makroskopische Befunde	82
4,4112 Mikroskopische Befunde	83
4,412 Sekundärreaktionen	84
4,4121 Makroskopische Befunde	84
4,4122 Mikroskopische Befunde	86
4,42 Regionäre Lymphknoten	86
4,421 Primärreaktionen	86
4,4211 Makroskopische Befunde	86
4,4212 Mikroskopische Befunde	88
4,422 Sekundärreaktionen	89
4,4221 Makroskopische Befunde	89
4,4222 Mikroskopische Befunde	93
4,43 Milz	94
4,431 Makroskopische Befunde	94
4,432 Mikroskopische Befunde	95
4,44 Veränderungen in anderen Organen	96
4,441 Lungen	96
4,442 Leber	97
4,443 Thymus	98
4,444 Verdauungstrakt	98
4,445 Körpergewicht	99
4,5 Subkutane Injektion von komplettem FREUND- schem Adjuvans	99

4,51 Gelenke	99
4,511 Makroskopische Befunde	99
4,512 Mikroskopische Befunde	99
4,513 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen	99
4,52 Regionäre Lymphknoten	104
4,521 Makroskopische Befunde	104
4,522 Mikroskopische Befunde	104
4,53 Milz	105
4,531 Makroskopische Befunde	105
4,532 Mikroskopische Befunde	105
4,54 Veränderungen in anderen Organen	105
4,541 Lungen, Leber, Thymus	105
4,542 Körpergewicht	106
4,6 Intraperitoneale Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans	107
4,61 Gelenke	107
4,611 Makroskopische Befunde	107
4,612 Mikroskopische Befunde	107
4,613 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen	107
4,62 Regionäre Lymphknoten	113
4,621 Makroskopische Befunde	113
4,622 Mikroskopische Befunde	113
4,63 Milz	114
4,631 Makroskopische Befunde	114
4,632 Mikroskopische Befunde	114
4,64 Veränderungen in anderen Organen	116
4,641 Bauchhöhle	116
4,642 Leber	119
4,643 Mesenteriale Lymphknoten	121
4,644 Lungen	123
4,645 Thymus	123
4,646 Körpergewicht	125
4,7 Intraperitoneale Injektion von inkomplettem FREUNDschem Adjuvans	126

4,71 Gelenke	126
4,711 Makroskopische Befunde	126
4,712 Mikroskopische Befunde	126
4,72 Regionäre Lymphknoten	126
4,721 Makroskopische Befunde	126
4,722 Mikroskopische Befunde	127
4,74 Veränderungen in anderen Organen	128
4,741 Lungen, Leber, Thymus	128
4,742 Körpergewicht	128
4,8 Intrapleurale Injektion von komplettem FREUND-	
schem Adjuvans	128
4,81 Gelenke	128
4,811 Makroskopische Befunde	128
4,812 Mikroskopische Befunde	129
4,82 Regionäre Lymphknoten	134
4,821 Makroskopische Befunde	134
4,822 Mikroskopische Befunde	135
4,83 Milz	135
4,831 Makroskopische Befunde	135
4,832 Mikroskopische Befunde	136
4,84 Veränderungen in anderen Organen	137
4,841 Thoraxhöhle	137
4,8411 Makroskopische Befunde	137
4,8412 Mikroskopische Befunde	139
4,842 Pleura	139
4,843 Mediastinale Lymphknoten	144
4,844 Lungen	146
4,845 Leber	148
4,846 Thymus	148
4,847 Körpergewicht	148
<u>5,0 Diskussion</u>	150
<u>6,0 Zusammenfassung</u>	158
<u>7,0 Literaturverzeichnis</u>	160
<u>8,0 Lebenslauf</u>	167

1.0 Einleitung

Die Ätiologie und die Pathogenese der chronischen Gelenkentzündungen des Menschen sind in vielen Fragen noch nicht aufgeklärt. Deshalb wurde immer wieder versucht, im Tierexperiment Arthritiden zu erzeugen, die dem entsprechenden Krankheitsbild beim Menschen ähnlich sind. Hierzu wurde in früheren Arbeiten (KLINGE, 1929; KLINGE und FRICKE, 1931; VAUBEL, 1932; KLINGE, 1934) die intraartikuläre Injektion eines artfremden Serums nach vorausgegangener Sensibilisierung durch subkutane Injektion des gleichen Serums verwendet. Wegen der starken Ähnlichkeit der hierbei auftretenden Gelenkreaktion mit dem ARTHUS-Phänomen sprach man von anaphylaktischer Gelenkentzündung. Da jedoch nach einer bestimmten Latenzzeit auch in den nicht injizierten Gelenken sowie im Bindegewebe anderer Organe eine entzündliche Reaktion auftritt, muß man an einen mehr generalisierten immunologischen Prozeß als Grundlage dieser Entzündung denken. Bei mehrmaliger subkutaner oder intravenöser Injektion eines artfremden Serums tritt keine entzündliche Reaktion an den Gelenken auf, während bei wiederholter periartikulärer Injektion eine Gelenkentzündung nachgewiesen wurde. Aus dieser Beobachtung ergibt sich, daß außer der injizierten Substanz auch der Injektionsort für die Art der folgenden Reaktion bedeutungsvoll ist. Man muß annehmen, daß durch die entzündliche Reaktion am Ort der Injektion eine dort vorhandene Bindegewebskomponente verändert wird, die dann das injizierte Material ergänzt und ihm seine gegen das Bindegewebe, vor allem gegen das der Gelenke gerichtete antigene Spezifität verleiht.

PEARSON und WOOD (1959) verwendeten zur experimentellen Erzeugung einer Arthritis komplettes FREUNDsches Adjuvans ("Adjuvans-Arthritis"). Diese Substanz injizierten sie subkutan in die Fußsohle der Versuchstiere. WAKSMAN und Mitarb. (1960) wiesen darauf hin, daß auch dieser Form der experimentell erzeugten Arthritis ein immunologischer Prozeß zugrunde

liegt. Hierbei findet die Antikörperbildung in den regionären Lymphknoten statt. Überträgt man nämlich nach der Injektion intakte Zellen der regionären Lymphknoten auf unbehandelte Tiere, so tritt bei diesen Empfängertieren ebenfalls eine Gelenkentzündung auf (PEARSON und WOOD, 1963). Weiterhin zeigte NEWBOULD (1964), daß sich die Entwicklung einer "Adjuvans-Arthritis" verhindern läßt, wenn man innerhalb von 5 Tagen nach der Injektion die regionären Lymphknoten entfernt.

2.0 Fragestellung

Die Untersuchungen beschäftigten sich mit folgenden Fragen:

- a) Bedeutung des Applikationsortes und damit der Primärreaktion für das spätere Auftreten der Sekundärreaktionen.
- b) Unterschiede der zellulären Reaktion bei Primär- und Sekundärreaktionen.
- c) Ermittlung des Zeitpunktes nach der Injektion, zu dem die Synovialzellen von Kniegelenken eine deutliche Proliferation aufweisen, durch zytophotometrische Bestimmungen des DNS-Gehaltes dieser Zellen.
- d) Bedeutung des lymphatischen Systems für die Pathogenese der "Adjuvans-Arthritis".

3.0 Material und Methodik

3.1 Material

3.1.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden 3 Monate alte männliche Ratten (WistarAF/Han-Ratten aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover-Linden) verwendet. Zu Versuchsbeginn betrug das Durchschnittsgewicht aller Ratten 285,81 g (Tab. 1).

Versuchs- nummer	Gruppe	Anzahl	Mittelwert $\bar{x}$ (g)	Streuung s (g)
4,1	-	16	282,93	+ 15,54
4,1	Chemische Unter- suchung:			
	Versuchstiere	10	287,30	+ 22,62
	Kontrolltiere	10	304,10	+ 16,79
4,2	-	5	284,80	+ 12,97
4,3	1	5	292,00	+ 8,03
4,3	2	5	291,80	+ 11,10
4,3	3	5	304,20	+ 13,92
4,3	Spendertiere	6	284,00	+ 8,90
4,4	1	5	284,80	+ 4,44
4,4	2	5	265,80	+ 15,89
4,4	3	5	271,00	+ 14,46
4,4	4	5	268,00	+ 14,45
4,5	-	16	275,50	+ 7,23
4,6	-	16	288,94	+ 8,82
4,7	-	5	291,20	+ 11,95
4,8	-	15	294,85	+ 15,59
4,1 - 4,8	-	134	285,81	+ 11,72

Tab. 1: Anzahl der Ratten der einzelnen Versuche. Mittelwerte und Streuungen der Rattengewichte der einzelnen Versuchsgruppen.

Anzahl aller Versuchstiere. Mittelwert und Streuung der durchschnittlichen Rattengewichte aller Versuchstiere.

3,12 FREUNDSches Adjuvans*

Verwendet wurde das inkomplette und das komplette FREUNDSche Adjuvans der Difco Laboratories, Detroit, Michigan - USA. 10 ml des inkompletten FREUNDSchen Adjuvans bestehen aus 1,5 ml Arlacel A (=Mannit-mono-oleat) und 8,5 ml Bayol F (= 42,5 % Paraffin, 31,4 % monozyklisches Naphthalin, 26,1 % polyzyklisches Naphthalin).

Das komplette FREUNDSche Adjuvans besitzt die gleiche Zusammensetzung. Es enthält zusätzlich hitzegetötete und getrocknete apathogene Mykobakterien (*Mycobacterium butyricum*). In 10 ml komplettem FREUNDSchem Adjuvans sind 50 mg dieser Bakterien suspendiert.

3,2 Methodik

3,21 Haltung, Ernährung und Behandlung der Versuchstiere

3,211 Haltung und Ernährung der Versuchstiere

Die Ratten wurden in Gruppen von jeweils 5 Tieren in Käfigen gehalten. Sie wurden mit Wasser und Laboratoriumsstandardfutter (Standard laboratoriums Voders, Hope Farms, Woerden, Holland) ad libitum ernährt.

3,212 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,1

14 von 16 Ratten wurde jeweils 0,1 ml komplettes FREUNDSches Adjuvans subkutan in die Fußsohle der linken Hinterpfote injiziert. Die beiden nicht injizierten Ratten dienten als Kontrolltiere. Jeden 2. Tag wurde jeweils eine Ratte getötet und obduziert.

Von 20 weiteren Ratten wurde 10 Ratten ebenfalls jeweils 0,1 ml komplettes FREUNDSches Adjuvans subkutan in die Fußsohle injiziert. Die 10 nicht injizierten Ratten wurden als Kontrolltiere verwendet. Alle 20 Ratten wurden am 8. Tag nach der

* Herrn Dozent Dr. H. Finger, Würzburg, möchte ich für die Überlassung des FREUNDSchen Adjuvans danken.

Injektion getötet und obduziert. Diese Ratten wurden ausschließlich für chemische Untersuchungen verwendet (siehe: 3,226).

3,213 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,2

5 Ratten wurde in Äthernarkose die Milz exstirpiert. Im Operationsgebiet wurden nach Einleiten der Narkose die Haare ausgezupft. Die Bauchhöhle wurde durch einen etwa 2,5 cm langen Schnitt entlang dem Rippenbogen im Bereich der linken Flanke eröffnet. Die Milz wurde nach außen verlagert und ihre Hilusgefäße mit 3 bis 4 Ligaturen unterbunden. Peripher der Ligaturen wurden die Gefäße sowie die sie umgebenden serösen Häute durchtrennt. Hierdurch war die Milz gelöst und konnte entfernt werden. Die proximal der Ligaturen erhalten gebliebenen Gefäßstümpfe wurden wieder in die Bauchhöhle versenkt. Die beiden Schnittflächen der Operationswunde wurden aneinander gelegt und in zwei Schichten mit Supramid vernäht. Das Operationsgebiet wurde anschließend mit einem Film aus Nobecutan-Spray abgedeckt. Eine Woche nach dieser Operation erfolgte die Injektion des kompletten FREUNDschen Adjuvans. Hiervon wurden jeder Ratte dieses Versuches 0,1 ml subkutan in die Fußsohle der linken Hinterpfote injiziert. Am 28. Tag nach der Injektion wurden diese Versuchstiere getötet und obduziert.

3,214 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,3

6 Ratten wurde in jede Hinterpfote jeweils 0,1 ml komplettes FREUNDsches Adjuvans injiziert. 2 dieser Ratten wurden am 2. Tag nach der Injektion getötet. Ihre poplitealen und inguinalen Lymphknoten wurden herauspräpariert und mit etwas physiologischer Kochsalzlösung in einen Glaszylinder gegeben. Durch Drehbewegungen eines in diesen Zylinder eingeführten,

an seiner Oberfläche aufgerauhten Glaskolbens wurden die Lymphknoten so homogenisiert, daß ihre Zellverbände zwar zerstört, die Zellen selbst jedoch weitgehend erhalten blieben. Diese Zellsuspension wurde von noch erhalten gebliebenen Gerüstsubstanzen und von Fettgewebbsfetzen getrennt und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ml aufgefüllt. Diese Zellsuspension wurde zu gleichen Teilen 5 Ratten subkutan in die Fußsohlen beider Hinterpfoten injiziert.

Die nächsten beiden der 6 mit komplettem FREUNDschem Adjuvans behandelten Ratten wurden am 4. Tag, die letzten beiden am 6. Tag nach der Injektion getötet. Ihre poplitealen und inguinalen Lymphknoten wurden in der gleichen Weise behandelt und übertragen wie die Lymphknoten der Ratten, die 2 Tage nach der Injektion getötet wurden.

Alle 15 Empfängertiere wurden am 28. Tag nach der Übertragung der Zellsuspension getötet und obduziert.

3,215 Behandlung der Versuchstiere des Versuches 4,4

20 Ratten wurde jeweils 0,1 ml komplettes FREUNDsches Adjuvans subkutan in die Fußsohle der linken Hinterpfote injiziert. Dieser Injektion ging eine 8tägige Vorbehandlung mit Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204) voraus. Hierbei wurden jeder Ratte zunächst 20 mg P 204 intraperitoneal injiziert. 2,4 und 6 Tage später wurden jeder Ratte zusätzlich jeweils 10mg dieses Mittels subkutan im Bereich des Rückens injiziert. Am 8. Tag nach der Erstinjektion erfolgte eine weitere intraperitoneale Injektion von 20 mg P 204, so daß jede Ratte innerhalb von 8 Tagen 70 mg P 204 erhalten hatte. Auf die letzte Injektion von P 204 erfolgte unmittelbar die Injektion des kompletten FREUNDschen Adjuvans. Am 7., 14., 21. und 28. Tag nach dieser Injektion wurden jeweils 5 Ratten getötet und obduziert.

3,216 Behandlung der Versuchstiere der Versuche 4,5; 4,6; 4,7 und 4,8

14 Ratten wurde jeweils 0,1 ml komplettes FREUNDSches Adjuvans subkutan in den Rücken injiziert (Versuch 4,5). 14 weiteren Ratten wurde die gleiche Menge des kompletten FREUNDSchen Adjuvans intraperitoneal (Versuch 4,6) und einer dritten Gruppe von 14 Ratten intrapleural (Versuch 4,8) injiziert. Jeden 2. Tag wurde eine Ratte aus jeder Versuchsgruppe getötet und obduziert. 5 Ratten wurden als Kontrolltiere verwendet. Von diesen wurden zwei am 1. Versuchstag, eine am 14. Versuchstag und zwei am 28. Versuchstag getötet und obduziert.

Als Kontrollversuch zu Versuch 4,6 wurde 5 Ratten jeweils 0,1 ml inkomplettes FREUNDSches Adjuvans intraperitoneal (Versuch 4,7) injiziert. Diese 5 Ratten wurden alle am 28. Tag nach der Injektion getötet und obduziert.

3,22 Aufarbeitung des Materials

3,221 Gelenkmessungen

Die Versuchstiere wurden täglich besichtigt. Im Abstand von 2 bis 4 Tagen wurden mit einem Stechzirkel in Höhe der Maleolengabel die Durchmesser der Karpal- und Tarsalgelenke bestimmt und die hierbei gefundenen Werte graphisch addiert.

3,222 Obduktion der Versuchstiere

In Äthernarkose wurden im Bereich des Halses Rückenmark und größere Halsgefäße durchtrennt. Hierbei kam es zum weitgehenden Ausbluten der Ratten. Die Haut und das subkutane Bindegewebe wurden auf der Bauchseite in der Mittellinie vom Unterkiefer bis zur Symphyse gespalten und zur Seite hin von der angrenzenden Muskulatur der Brust- und Bauchwand abpräpariert. In gleicher Weise wurden die Vorderseite der

hinteren Extremitäten von der Inguinalgegend bis zu den Tarsalgelenken sowie die Kalotte des Schädels von der Haut und dem subkutanen Binde- und Fettgewebe entblöst. Schädel-, Brust- und Bauchhöhle wurden eröffnet, sämtliche Organe wurden entnommen und in 4 %igem neutralem Formalin nach LILLIE fixiert. In gleicher Weise wurden die Pfoten und die Ellbogengelenke sowie der gehäutete Schwanz aufbewahrt. Die Milz und die poplitealen und inguinalen Lymphknoten wurden vor dem Fixieren sofort nach der Entnahme gewogen.

3,223 Herstellung mikroskopischer Präparate

Nach dem Fixieren wurden die Präparate zugeschnitten und im Autotechnicon nach dem im histologischen Routinelabor üblichen Behandlungsschema für die Einbettung in Paraffinblöcke vorbereitet. Nach Erkalten der Blöcke wurden 5 µdicke Schnitte hergestellt, die mit Eiweißglyzerin auf Objektträger aufgeklebt wurden. Danach wurden die Präparate mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und in Eukitt mit Deckgläsern eingedeckt.

Die Gelenkpräparate wurden nach der Fixierung zunächst 36 Stunden mit 5 %iger Salpetersäure entkalkt. Anschließend wurden sie zugeschnitten, sodann mit 5 %igem Kaliumaluminiumsulfat 12 Stunden neutralisiert und danach 12 Stunden in fließendem Leitungswasser neutralisiert. Die weitere Behandlung entsprach der der übrigen histologischen Präparate nach der Fixierung.

3,224 Herstellung von Häutchenpräparaten

3,2241 Herstellung von Häutchenpräparaten der Synovialmembran von Kniegelenken

An beiden Kniegelenken wurden die Gelenkkapseln freipräpariert und von ihren Verbindungen zu Femur und Tibia gelöst.

Hierdurch entstand ein Gelenkkapselpräparat, welches im Zentrum die Patella enthielt. Dieses Präparat wurde mit seiner Außenseite auf eine Korkplatte gelegt, dort unter geringem Zug ausgespannt und an seinem Rand mit Igelstacheln auf der Korkplatte festgesteckt. Anschließend wurde das Präparat 30 min in absolutem Alkohol fixiert. Hierbei bildete sich oft auf der Oberfläche des Präparates ein Fettfilm, der sich durch Eintauchen des Präparates in Äther beseitigen ließ. Nach dem Entfetten der Oberfläche und nach einer kurzen Trocknungszeit wurde auf das Stratum synoviale der Gelenkkapsel ein Tesafilm (tesafilm Ruban plastique 5005, Beiersdorf, Hamburg) aufgeklebt. Dies war jedoch nur möglich, wenn die Oberfläche des Stratum synoviale vorher ausreichend entfettet war. Sowie der Tesafilm auf dem Stratum synoviale haftete, wurde er von diesem wieder abgezogen. Hierbei löste sich mit dem Tesafilm der oberflächliche geschlossene Zellverband des Stratum synoviale von dem darunter gelegenen Bindegewebe. Der Tesafilm wurde nun auf einen mit Eiweißglyzerin bestrichenen Objektträger so aufgeklebt, daß der Zellverband dem Objektträger unmittelbar auflag. Dehnte man die Behandlung mit Äther oder die vorausgehende Trocknungszeit zu lange aus, so klebte nach Abziehen des Tesafilms mit dem Zellverband auch darunter gelegenes Bindegewebe am Tesafilm. Diese Präparate waren für die weitere Behandlung ungeeignet. Kurz nach dem Aufkleben des Tesafilms wurde der Objektträger in Leitungswasser gelegt. Hierbei löste sich nach etwa 30 sec die Trägerschicht des Tesafilms von der Klebeschicht, so daß sich danach nur noch der Zellverband und die Klebeschicht auf dem Objektträger befanden. Nach einer Woche Lufttrocknen wurde der Objektträger in eine Schale mit Aceton gelegt. Hierbei nahm die Klebeschicht eine milchig-trübe Farbe an. Danach ließ sie sich mit Präpariernadeln vom Objektträger und vom Zellverband lösen, so daß sich nach dieser Behandlung nur noch der oberflächliche geschlossene Zellverband des Stratum synoviale auf dem Objektträger befand.

Die so hergestellten Präparate wurden 12 min in 1 n HCl bei einer Temperatur von 60°C hydrolysiert. Danach wurden sie eine Stunde lang nach FEULGEN (FEULGEN und ROSSENBECK, 1924) gefärbt, wobei SCHIFFsches Reagenz nach GRAUMANN (1952/53) verwendet wurde. Nach dreimaligem 10minütigem Spülen mit SO₂-Wasser und anschließendem 15minütigem Wässern in fließendem Leitungswasser wurden die Präparate nach Entwässern in der aufsteigenden Alkoholreihe in Eukitt mit Deckgläsern eingedeckt.

3,2242 Herstellung von Häutchenpräparaten der Pleura

In gleicher Weise wie die Häutchenpräparate der Synovialmembran wurden Häutchenpräparate der Pleura hergestellt. Diese wurden jedoch mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Vor dem Fixieren wurden zusätzlich die Zellgrenzen versilbert. Hierzu wurden die auf der Korkplatte aufgesteckten Präparate 3 mal kurz in 5 %ige Glucoselösung eingetaucht, dann für 30 sec in 0,25 %ige Silbernitratlösung.

3,225 Zytophotometrische Untersuchungen

Zur Bestimmung des DNS-Gehaltes der Zellkerne der Synovialmembranen wurde das integrierende Mikrodensitometer nach DEELEY (1955) der Firma Barr und Stroud, Glasgow verwendet. Die Messungen fanden unter folgenden Arbeitsbedingungen des Gerätes statt:

Lampenspannung:	9 Volt	Wellenlänge:	570 nm
Objektiv:	x 100	Multiplierspannung:	1
Lichtintensität:	5 bis 6	Leuchtfeldblende:	100 x
Absorptionsbereich:	5	Nachvergrößerung:	niedrig
Extinktionsniveau:	0,75		

Die Einstellung der 1. Blende richtete sich nach der Größe

des zu messenden Zellkernes. Pro Kern wurden 3 Messungen durchgeführt, von denen der Mittelwert bestimmt wurde. Von diesem Wert wurde der Leerwert abgezogen, der den Mittelwert mehrerer Meßwerte darstellte, die durch Messungen in unmittelbarer Nähe des Kernes im Leerfeld bestimmt wurden. Die Meßwerte erhielten die Bezeichnung Arbeitseinheiten (AE).

3,226 Chemische Untersuchungen

3,2261 DNS-Bestimmung

Die DNS-Bestimmung erfolgte nach der Methode von BURTON (1955).
Reagenzien:

DNS-Standard-Lösung:

10 mg DNS (Fischspermien)/10 ml 0,5 m HClO_4

DNS-Reagenz:

1,5 g Diphenylamin/1000 ml Eisessig
+ 1,5 ml konz. H_2SO_4

Die zu untersuchende Milz wurde zunächst im Eisbad in 0,25 m HClO_4 homogenisiert und anschließend 10 min mit 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das Sediment ebenfalls im Eisbad mit 0,25 m HClO_4 gewaschen und 10 min mit 3000 U/min zentrifugiert. Dieser Waschvorgang wurde einmal wiederholt. Hierbei wurde nach dem letzten Zentrifugieren der Überstand wiederum verworfen und das Sediment für die weitere Verarbeitung zurückbehalten.

Wegen ihrer geringen Menge wurden die Lymphknoten, um einen Substanzverlust zu vermeiden, nicht im Homogenisator homogenisiert, sondern in einem Zentrifugenglas mit einem Glasstab zerquetscht. Waschen in HClO_4 war bei den Lymphknoten ebenfalls nicht erforderlich. Ihre weitere Verarbeitung entsprach nun der des Milzsedimentes nach dem letzten Waschvorgang. Das Milzsediment beziehungsweise die zerquetschten Lymphknoten

wurden mit 5 ml 0,5 m HClO_4 30 min bei 90°C (Wasserbad) hydrolysiert und anschließend 20 min mit 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde vom Sediment getrennt und mit 0,5 m HClO_4 auf 5 ml aufgefüllt. 1,0 ml hiervon wurden mit 3,0 ml DNS-Reagenz versetzt. Die Reaktion lief 10 min bei 90°C .

Nach Abkühlen im Dunkeln wurden die Extinktionen bei einer Wellenlänge von 595 nm im Spektralphotometer PMQ II (Zeiss, Oberkochen) gemessen. Aus der Eichkurve wurden die DNS-Werte pro 1,0 ml Überstand abgelesen; mit 5 multipliziert ergaben sie den DNS-Gehalt im gesamten Überstand und damit den DNS-Gehalt des ganzen Organes.

3,2262 RNS-Bestimmung

Die RNS-Bestimmung erfolgte nach der Methode von CERIOTTI (1955).

Reagenzien:

RNS-Standard-Lösung:

5,0 mg Ribose/100 ml 0,5 m HClO_4

RNS-Reagenz:

0,1 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ /100 ml 32 %ige HCl

+ 3,5 ml 6 %ige Orcin-Äthanollösung

Nach der Perchlorsäurehydrolyse (siehe Abschnitt 3,2261) wurde 1,0 ml des Überstandes mit 8,0 ml 0,5 m HClO_4 verdünnt. Hiervon wurden 1,0 ml mit 3,0 ml RNS-Reagenz versetzt. Die Reaktion lief 40 min bei 90°C (Wasserbad). Im Spektralphotometer PMQ II (Zeiss, Oberkochen) wurden die Extinktionen bei einer Wellenlänge von 670 nm gemessen. Die Ergebnisse wurden mit den Werten einer Eichkurve verglichen und ebenfalls mit 5 multipliziert, um einen Wert für den gesamten Überstand und damit für das ganze Organ zu erhalten. Weil in der Standard-Lösung jedoch nicht RNS sondern Ribose enthalten war, mußten die Ergebnisse mit 3,851 multipliziert werden. Dieser

Umrechnungsfaktor wurde aus dem Gehalt der reinen RNS an Ribose bestimmt, der 26,3 % beträgt (BENEKE, unveröffentlichte Untersuchungen).

3,2263 Polysaccharidbestimmung

Die Polysaccharidbestimmung erfolgte in Anlehnung an die Methode von SEIFTER und Mitarb. (1950).

Reagenzien:

Polysaccharid-Standard-Lösung:

5,0 mg Glucose/100 ml H₂O

Polysaccharid-Reagenz:

2,0 g Anthron in 5,0 ml H₂O/100 ml konz. H₂SO₄

Nach der Perchlorsäurehydrolyse (siehe Abschnitt 3,2261) wurde 1,0 ml des Überstandes mit 6,0 ml Aqua dest. verdünnt. 1,0 ml dieser verdünnten Lösung wurden mit 3,0 ml Polysaccharid-Reagenz versetzt. Die Reaktion lief 10 min bei 80°C (Wasserbad). Nach Abkühlen im Dunkeln wurden die Extinktionen bei einer Wellenlänge von 630 nm im Spektralphotometer PMQ II (Zeiss, Oberkochen) gemessen. Aus einer Eichkurve wurden dann die Polysaccharidwerte für 1,0 ml Überstand abgelesen. Diese Werte wurden sodann mit 5 multipliziert, um den Polysaccharidgehalt für den gesamten Überstand und damit für das ganze Organ zu erhalten.

3,2264 Proteinbestimmung mit der Folin-Reaktion

Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von LOWRY und Mitarb. (1951).

Reagenzien:

Protein-Standard-Lösung:

20 mg Rinderalbumin/100 ml 0,5 M NaOH

Proteinreagenz:

1. Lösung A: 2,68 g Natrium-Kalium-Tartrat/100 ml H₂O

Lösung B: 1,0 g CuSO₄ · 5 H₂O/100 ml H₂O

Lösung C: 4,0 g NaOH + 20,0 g Na₂CO₃/1000 ml H₂O

Zur Herstellung dieses Reagenz wurden je 1,0 ml der Lösung A und der Lösung B in 100 ml der Lösung C gegeben.

2. Folin-Ciocalteus-Phenolreagenz

Das nach Perchlorsäurehydrolyse erhaltene Sediment (siehe Abschnitt 3,2261) wurde mit 0,5 m NaOH auf 50 ml aufgefüllt und bei 37°C 48 Stunden im Brutschrank inkubiert. Danach waren die Sedimente vollständig gelöst und konnten zur Proteinbestimmung verwendet werden. Von diesem gelösten Sediment wurden mit 0,5 m NaOH weitere Verdünnungen (von 1:2 bis 1:21) hergestellt. 1,0 ml einer jeden Verdünnung wurde mit 4,0 ml der 1. Reagenzlösung versetzt und eine Stunde lang stehen gelassen. Danach wurde jede Probe mit 0,5 ml der 1:2 verdünnten Folin-Ciocalteus-Phenolreagenz beschickt und 30 min stehen gelassen. Die Extinktionen wurden im Spektralphotometer PMQ II (Zeiss, Oberkochen) bei einer Wellenlänge von 750 nm gemessen. Im Vergleich mit einer Eichkurve und unter Berücksichtigung der Verdünnung ließ sich aus diesen gemessenen Werten der Gehalt des Sedimentes und damit des ganzen Organes an Protein angeben.

3,227 Statistische Untersuchungsmethoden

I) Berechnung der Streuung nach der Formel:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{n}}{n - 1}}$$

II) Prüfung auf Varianzhomogenität nach R.A. FISCHER:

$$F = \frac{s_{\text{major}}^2}{s_{\text{minor}}^2} \quad \text{Freiheitsgrade: } df = n-1$$

Übersteigt der errechnete F-Wert den F-Wert, der aus der Tabelle bei Berücksichtigung der Anzahl der Freiheitsgrade und unter der Annahme einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % ermittelt wurde, dann liegt Varianzheterogenität vor.

III) Berechnung der Mittelwertsunterschiede:

a) Bei gegebener Varianzheterogenität:

$$t = \frac{\bar{x}_V - \bar{x}_K}{\sqrt{\frac{s_V^2}{n_V} + \frac{s_K^2}{n_K}}} \quad df = \frac{n_V + n_K - 2}{2}$$

b) Bei gegebener Varianzhomogenität:

$$t = \frac{\bar{x}_V - \bar{x}_K}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^i x_V^2 + \sum_{n=1}^j x_K^2 - \frac{(\sum_{n=1}^i x_V)^2}{n_V} - \frac{(\sum_{n=1}^j x_K)^2}{n_K}}{n_V + n_K - 2}}} \left[\frac{1}{n_V} + \frac{1}{n_K} \right]$$

$$df = n_V + n_K - 2$$

x_V = Meßwert der Versuchsgruppe

$\bar{x}_V$ = Mittelwert der Meßwerte der Versuchsgruppe

x_K = Meßwert der Kontrollgruppe

$\bar{x}_K$ = Mittelwert der Meßwerte der Kontrollgruppe

n_V = Anzahl der Meßwerte der Versuchsgruppe

n_K = Anzahl der Meßwerte der Kontrollgruppe

Übersteigt der errechnete t-Wert den t-Wert, der aus der Anzahl der Freiheitsgrade und unter Annahme einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % bzw. 1 % aus der Tabelle ermittelt wurde, dann liegt eine signifikante Mittelwertsdifferenz vor.

4,0 E r g e b n i s s e

4,1 Intraplantare Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans

4,11 Gelenke

4,111 Primärreaktionen

4,1111 Makroskopische Befunde

Innerhalb von 2 Tagen nach Injektion entwickelt sich eine zunehmende blau-rötliche Verfärbung der injizierten Hinterpfote mit einer fortschreitenden Schwellung, die sich im Verlauf der folgenden Tage vom Bereich der Mittelpfote sowohl in Richtung der Phalangen als auch zum Tarsalgelenk hin ausbreitet und stetig an Stärke zunimmt. Etwa 16 Tage nach Injektion treten Ulzerationen an der injizierten Hinterpfote auf, die in den folgenden Tagen an Größe zunehmen und zu scharf begrenzten eingesunkenen Hautdefekten und zu Krustenbildungen führen. Aus diesen Ulcera läßt sich bei einigen Tieren ein grüngelber Eiter ausdrücken. Mit zunehmender Schwellung halten die Ratten die injizierte Pfote in Spitzfußstellung. Diese Haltung wird auch beim Laufen nicht verändert. Dabei berührt die Dorsalseite der geschwollenen Phalangen den Boden (Abb. 1 und 2). Vom 16. Tag nach Injektion an fällt eine zunehmende Atrophie des M. tibialis anterior auf der Seite der injizierten Hinterpfote auf.

4,1112 Mikroskopische Befunde

2 Tage nach Injektion findet man im subkutanen Bindegewebe und Fettgewebe massive Ansammlungen von Granulozyten und einzelnen Histiozyten, die um Fettvakuolen gelagert sind (Abb. 3). An der Synovialmembran und am Gelenkknorpel lassen sich keine Veränderungen nachweisen.

In den folgenden Tagen (4 Tage, 6 Tage nach Injektion) schreiten die entzündlichen Infiltrate in die Muskulatur fort und gelangen bis an das Periost benachbarter Knochen. Die Granulozyten bilden jedoch jetzt einen dichten Wall um die Fettvakuolen, so daß das Bild eines Granuloms entsteht (Abb. 4). Im angrenzenden lockeren Bindegewebe tritt eine Proliferation von Fibroblasten auf, die sich in den folgenden Tagen zunehmend verstärkt. Synovialmembran und Gelenkknorpel zeigen noch keine Veränderungen.

Die entzündlichen Infiltrate in Form der beschriebenen Granulome schreiten jetzt meist entlang der Sehnenscheiden (Abb. 5) bis zur Membrana synovialis fort (8 Tage, 10 Tage nach Injektion). Die Granulome haben an Menge zugenommen und konfluieren miteinander.

12 Tage nach Injektion haben die entzündlichen Infiltrate in allen Bereichen weiter an Stärke zugenommen. Die Granulome lassen jetzt eine Schichtung erkennen: Um die Fettvakuolen herum lagert sich ein dünner Saum dicht gepackter Granulozyten, an die sich nach außen hin Histiozyten und Fibroblasten anschließen (Abb. 6). Obgleich die Membrana synovialis erheblich entzündlich infiltriert ist, ist der Gelenkknorpel noch gut erhalten.

Am 14. Tag nach Injektion treten erstmals tuberkuloide Granulome auf, die aus Epitheloidzellen mit einzelnen dazwischengelagerten LANGHANSschen Riesenzellen bestehen. Diese Granulome werden in den folgenden Tagen zahlreicher (Abb. 7).

16 Tage nach Injektion proliferiert von der Membrana synovialis aus dort, wo die Blutgefäße in die knöcherne Epiphyse

eintreten, entzündliches Bindegewebe subkartilaginär in den Knochen (Markpannus) und zerstört die Knochenbälkchen der Spongiosa (Abb. 8a-c). Der darüber gelegene Gelenkknorpel ist noch erhalten.

Am 18. Tag, noch stärker am 20. Tag nach Injektion sieht man neben der erheblichen Vermehrung der epitheloidzelligen Granulome und dem Markpannus in einigen Gelenken die Ausbildung eines Kapselpannus (Abb. 9a-d). Wiederum von der Membrana synovialis ausgehend wächst zugenartig zellreiches Bindegewebe über den Gelenkknorpel. Durch dieses vorwachsende Bindegewebe wird der Gelenkknorpel zerstört. In der Nähe des zerstörten Knorpels treten herdförmig angeordnete Knorpelregenerate auf (Abb. 10). Unterhalb des Gelenks kommt es zur periostalen Knochenneubildung (Abb. 11). In anderen Bereichen ist der Knochen völlig zerstört und liegt nur noch in Bruchstücken vor. Diese Veränderungen nehmen in den folgenden Tagen stetig an Intensität zu.

In den epitheloidzelligen Granulomen treten vom 24. Tag nach Injektion an massenhaft Riesenzellen auf. Durch die weitere Entwicklung des Kapselpannus, der zusammen mit dem Markpannus den Gelenkknorpel nahezu völlig zerstört (Abb. 12a-b), entsteht in einigen Gelenken eine fibröse Ankylose.

Der Ablauf der entzündlichen Primärreaktion kann wie folgt zusammengefaßt werden: Der durch die Injektion im subkutanen Binde- und Fettgewebe ausgelöst entzündliche Prozeß schreitet in die Muskulatur fort und gelangt entlang der Sehnenscheiden zur Gelenkkapsel. Von dort aus entwickeln sich Mark- und Kapselpannus, die zusammen den Gelenkknorpel und den subkartilaginären Knochen zerstören.

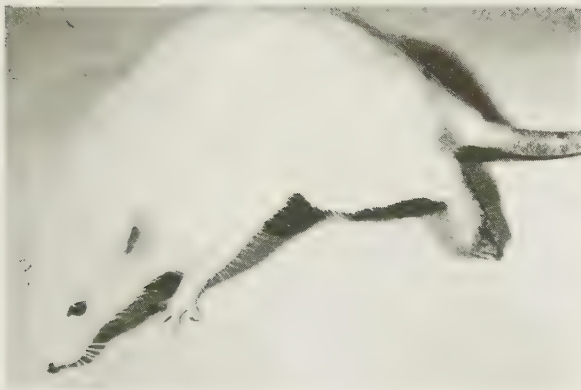


Abb. 1: Stellung der injizierten Hinterpfote während des Laufens



Abb. 2: Stellung der injizierten Hinterpfote während des Laufens

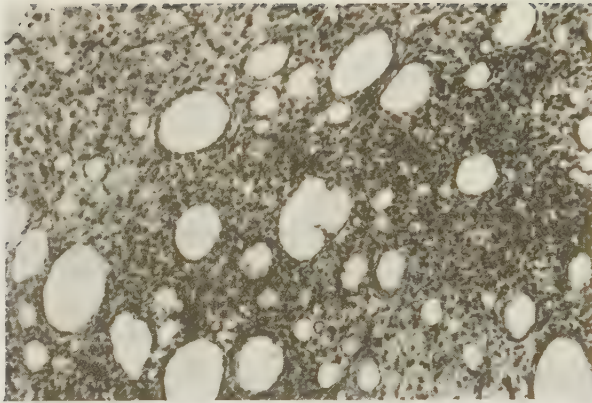


Abb. 3: Ansammlung von Granulozyten und Histiozyten um Fettvakuolen 2 Tage nach Injektion.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

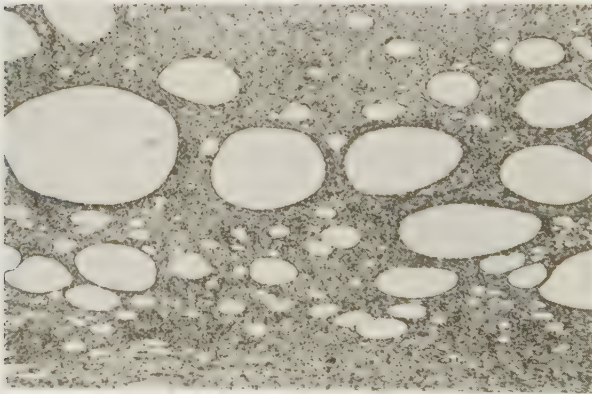


Abb. 4: Granulozytenwall um Fettvakuolen 6 Tage nach Injektion.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 34 x

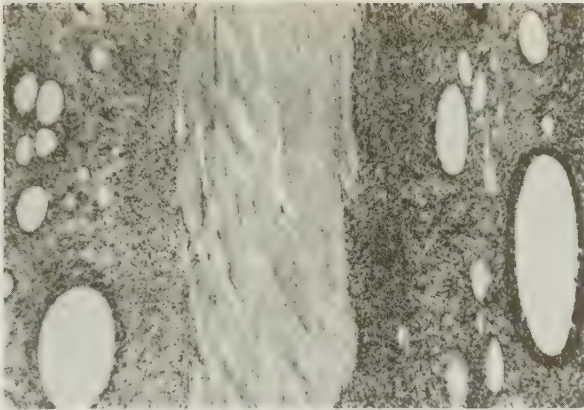


Abb. 5: Entzündliche Infiltrate in unmittelbarer Nähe einer Sehne.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

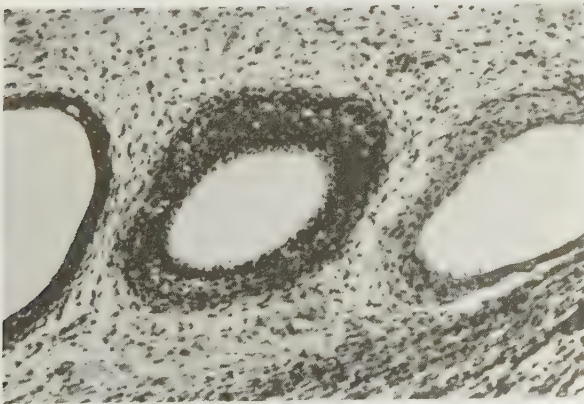


Abb. 6: Fettvakuolen, umgeben von einem Granulozytenwall, an den sich nach außen Fibroblasten und Histiozyten anschließen.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

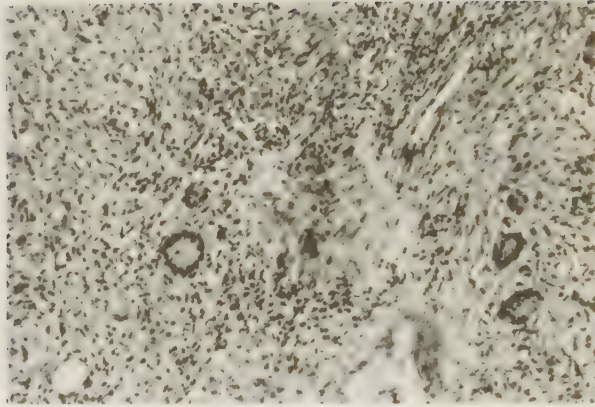


Abb. 7: Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen 20 Tage nach Injektion.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

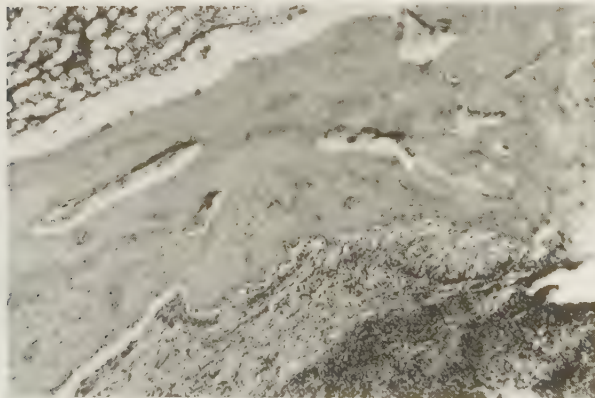


Abb. 8a: Beginnende Markpannusbildung mit Abbau der Compacta.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

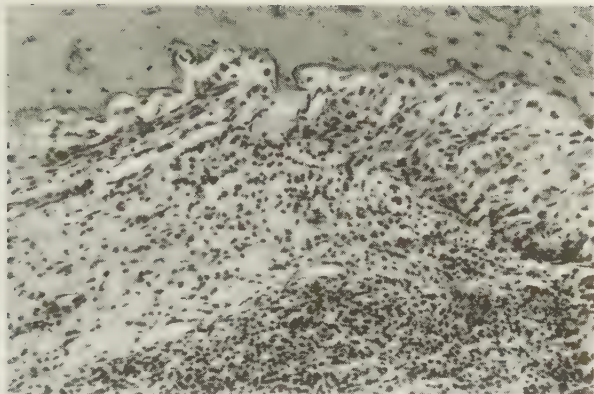


Abb. 8b: Beginnende Markpannusbildung mit Abbau der Compacta.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

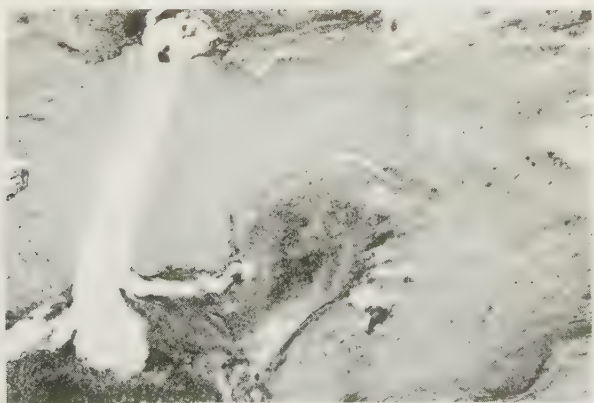


Abb. 8c: Subkartilaginär gelegener Markpannus. Der darüber
gelegene Gelenkknorpel ist noch erhalten.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 34 x

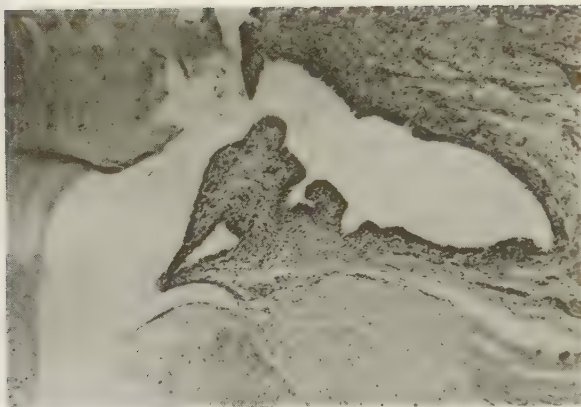


Abb. 9a: Beginnende Kapselpannusbildung I: Proliferation der Synovialzellen mit verstärkter Ausprägung der Synovialzotten.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

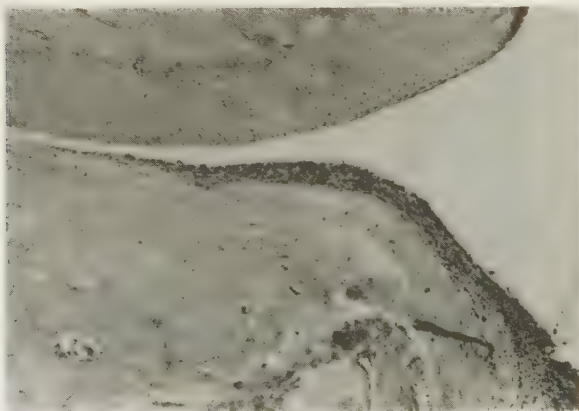


Abb. 9b: Beginnende Kapselpannusbildung II: Zellreiches Bindegewebe wächst von der Membrana synovialis aus zungenartig über den Gelenkknorpel.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

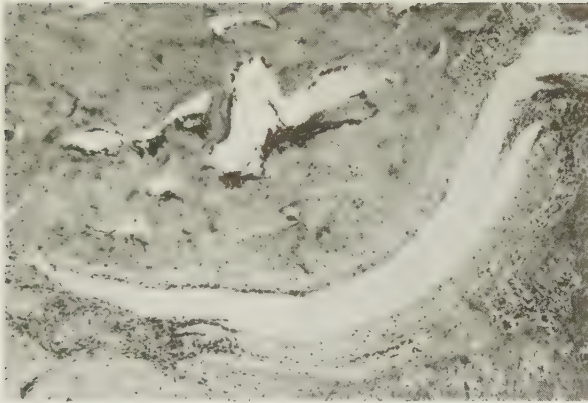


Abb. 9c: Kapselpannus: Zerstörung des Gelenkknorpels durch ein zellreiches proliferierendes Bindegewebe vom Rand des Gelenkspaltes her.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x



Abb. 9d: Kapselpannus: Detailvergrößerung der Abb. 9c.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

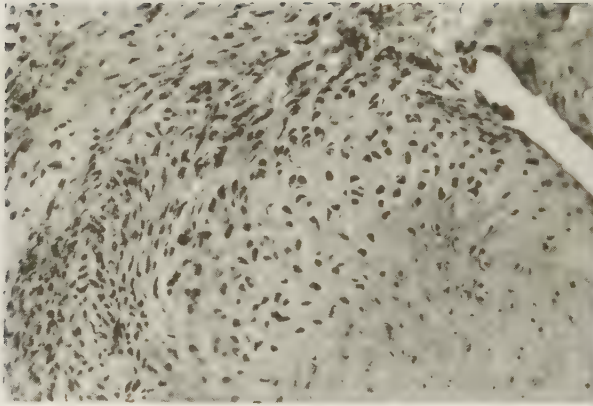


Abb. 10: Herdförmiges Knorpelregenerat am Rand des Gelenkspaltes.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

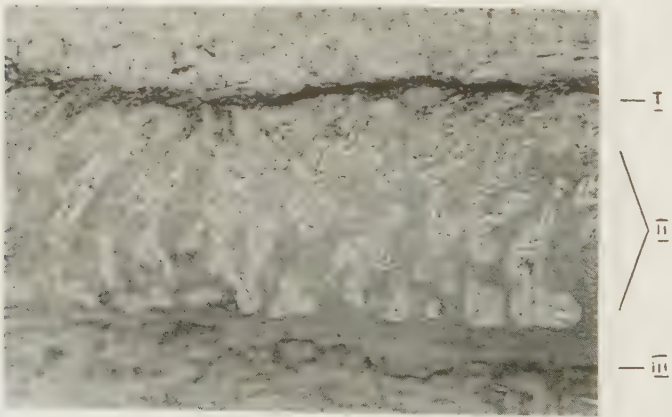


Abb. 11: Periostale Knochenneubildung. I=Periost, II=neugebildeter Knochen, III=Kittlinie zwischen ursprünglichem und neugebildetem Knochen.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

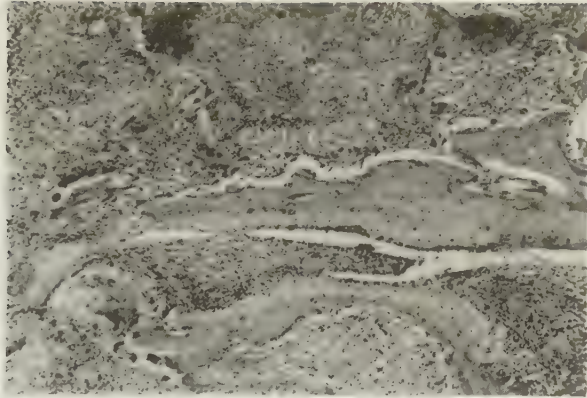


Abb. 12a: Fast vollständige Zerstörung des Gelenkknorpels und des subkartilaginären Knochens 21 Tage nach Injektion. In Bildmitte: Rest des Gelenkspaltes. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

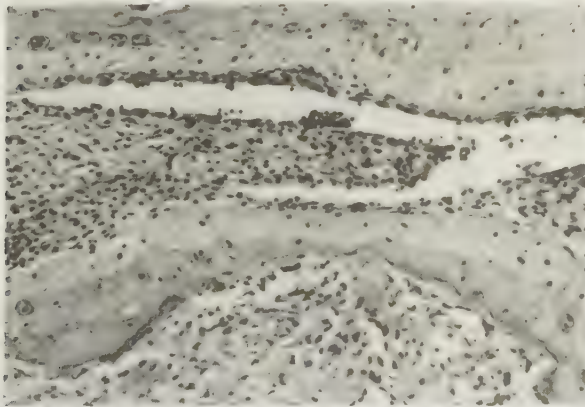


Abb. 12b: Detailvergrößerung der Abb. 12a. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

4,112 Sekundärreaktionen

4,1121 Makroskopische Befunde

Etwa 12 Tage nach Injektion kommt es im Bereich der Mittelfoten und der Phalangen der nicht injizierten Pfoten zu einer zunehmenden Rötung und Schwellung. Diese Veränderungen lassen sich in den folgenden Tagen auch an den Karpal- und Tarsalgelenken nachweisen. Sie führen hier bei einigen Tieren zu einer meßbaren Zunahme ihrer Durchmesser (Abb. 13, 14 und 15). Mit zunehmender Schwellung kommt es zu einer geringen Bewegungseinschränkung. Diese ist jedoch nicht so ausgeprägt wie die an der injizierten Hinterpfote. Ulzerationen lassen sich an den nicht injizierten Pfoten nicht nachweisen.

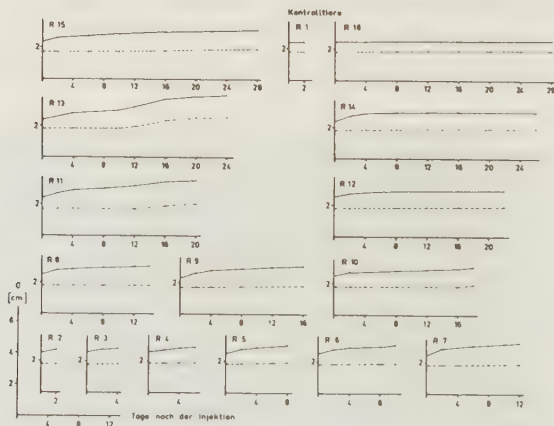


Abb. 13: Gelenkdurchmesser der Karpal- und Tarsalgelenke der Versuchstiere R_2 bis R_{15} und der Kontrolltiere R_1 und R_{16} in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion dargestellt. G = Gelenkdurchmesser in cm. Abstand zwischen Abszisse und gestrichelter Kurve = Summe der Gelenkdurchmesser der drei nicht injizierten Pfoten. Abstand zwischen gestrichelter und durchgezogener Kurve = Gelenkdurchmesser der injizierten Pfote.



Abb. 14: Nicht injizierte Hinterpfote (oben) und injizierte Hinterpfote (unten) 16 Tage nach Injektion.



Abb. 15:

Unten: Injizierte
Hinterpfote
24 Tage nach
Injektion

Mitte: Nicht injizierte
Hinterpfote des
gleichen Tieres.

Oben: Kontrollpfote

4,1122 Mikroskopische Befunde

Bis zum 10. Tag nach Injektion lassen sich keine Veränderungen an den nicht injizierten Hinterpfoten nachweisen. 2 Tage, noch ausgeprägter 4 Tage später findet man in der Gelenkkapsel aller Gelenke dieser Pfoten zunächst perivaskuläre, dann bis in die Synovialzotten hineinreichende Zellinfiltrate, die aus Histiozyten, Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. Granulozyten lassen sich nur ganz vereinzelt nachweisen. In den folgenden Tagen treten in den Gelenkkapseln fibrinoide Nekrosen auf (Abb. 16). Die entzündlichen Infiltrate breiten sich von der Gelenkkapsel ins periartikuläre Gewebe hin aus, vor allem entlang der Sehnenscheiden derjenigen Sehnen, die in der Nähe der Gelenke inserieren oder in ihrer unmittelbaren Nähe vorbeiziehen.

18 Tage nach Injektion tritt eine stärkere Proliferation von Synovialzellen auf. Diese breitet sich zungenförmig über den Gelenkknorpel aus (Abb. 17). Mit zunehmender Verstärkung dieser Zellproliferation kommt es zur Ausbildung eines Kapselpannus. Hierbei wird der angrenzende Gelenkknorpel zerstört. In unmittelbarer Nähe des zerstörten Knorpels treten Knorpelregenerate auf. Gleichzeitig kommt es zu einer geringen periostalen Knochenneubildung.

Am 24. Tag nach Injektion sowie an den folgenden Tagen bilden sich die entzündlichen Infiltrate wieder zurück, sie bleiben jedoch bis zum Ende des Versuches noch nachweisbar. Dagegen schreitet die Ausbildung des Kapselpannus sowie die periostale Knochenneubildung weiter fort. Außer diesen Reaktionen (Sekundärreaktionen) lassen sich an keiner der nicht injizierten Hinterpfoten Fettvakuolen oder epitheloidzellige Granulome nachweisen (Primärreaktionen).

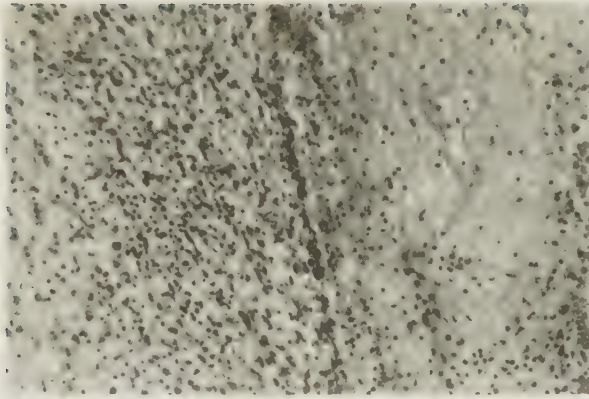


Abb. 16: Fibrinoide Nekrose (rechte Bildhälfte) in einer Gelenkkapsel einer nicht injizierten Pfote.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

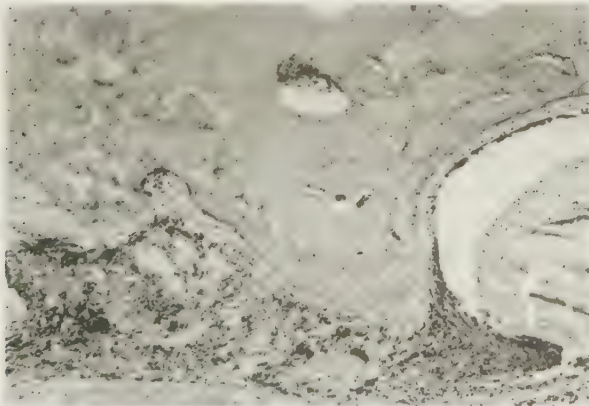


Abb. 17: Beginnende Kapselpannusbildung: Zellreiches Bindegewebe wächst zungenförmig über den Gelenkknorpel (rechte Bildhälfte) und beginnende Markpannusbildung (linke Bildhälfte).
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

4,113 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen

Die Membrana synovialis der Kniegelenke der nicht injizierten Ratten besitzt einen einschichtigen geschlossenen Zellverband (Abb. 18a-b) aus zytoplasmareichen Zellen, die jeweils einen runden oder ovalen Zellkern mit einem locker strukturiertem Chromatingerüst enthalten. Diese Zellkerne befinden sich, wie zytophotometrische Messungen zeigen, in der G_1 -Phase (diploider DNS-Gehalt). Ganz vereinzelt finden sich Zellkerne, die erheblich vergrößert sind. Diese Zellkerne befinden sich in der S-Phase (DNS-Synthesephase) oder in der G_2 -Phase (tetraploider DNS-Gehalt). Kernteilungsfiguren lassen sich dagegen nicht erkennen.

Bis zum 16. Tag nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans befinden sich in der Synovialmembran der Kniegelenke 2 % bis 12 % der gemessenen Zellkerne in der Synthesephase oder verfügen über einen tetraploiden DNS-Gehalt (Tab. 2). Diese Zellkerne sind wiederum erheblich vergrößert (Abb. 19a-b). Einige von ihnen besitzen zusätzlich ein deutlich hervortretendes und stärker gefärbtes Chromatingerüst.

Vom 18. Tag nach Injektion an erhöht sich der Anteil dieser Zellkerne auf 24 % bis 32 % (Tab. 2 und Abb. 20a-e). Ganz vereinzelt sind jetzt auch Kernteilungsfiguren zu erkennen. Faßt man die Meßwerte aller entsprechenden Versuche zusammen und vergleicht die Werte der Tiere, die auf die Injektion nicht reagiert haben mit denen, die eine positive Reaktion zeigten, so findet man eine Zunahme der Zellkerne in der DNS-Synthesephase (S-Phase) von 0,56 % auf 7,09 % und eine Zunahme der Zellkerne, die über einen tetraploiden DNS-Gehalt (G_2 -Phase) verfügen von 2,02 % auf 17,82 % (Tab. 3).

Tage nach Injektion	Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (%)	Zellkerne in der Synthese- phase (%)	Zellkern mit tetraploidem DNS-Gehalt (%)
Kontrolltiere	100	0	0
2	97	2	1
4	98	1	1
6	100	0	0
8	93	2	5
10	93	3	4
12	93	0	7
14	90	3	7
16	88	3	9
18	69	8	23
20	72	8	20
22	68	8	24
24	76	9	15
26	69	10	21
28	73	8	19

Tab. 2: Prozentualer Anteil der Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (G_1 -Phase), der Zellkerne in der DNS-Synthesephase (S-Phase) und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt (G_2 -Phase) in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion.

Gruppe		Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt	Zellkerne in der Synthese- phase	Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt
I	$\bar{x} =$	97,42	0,56	2,02
	$s =$	$\pm 2,68$	$\pm 1,04$	$\pm 2,20$
II	$\bar{x} =$	75,09	7,09	17,82
	$s =$	$\pm 6,19$	$\pm 2,12$	$\pm 4,67$

Tab. 3: Prozentualer Anteil der Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (G_1 -Phase), der Zellkerne in der DNS-Synthesephase (S-Phase) und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt (G_2 -Phase). I = Gruppe der Meßwerte von Ratten ohne Reaktion, II = Gruppe der Meßwerte von Ratten mit Reaktion auf die Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

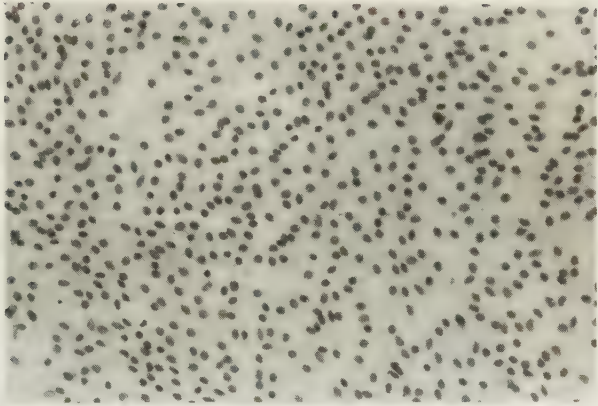


Abb. 18a: Häutchenpräparat des oberflächlichen geschlossenen Zellverbandes der Membrana synovialis des Kniegelenkes eines Kontrolltieres.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

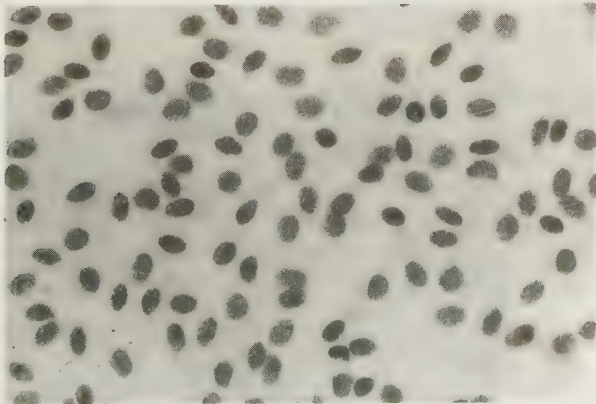


Abb. 18b: Häutchenpräparat wie bei Abb. 18a.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

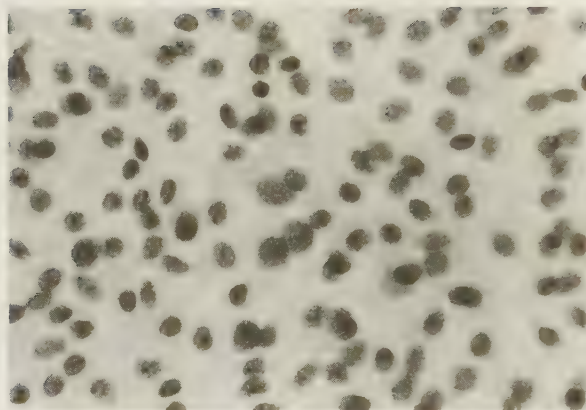


Abb. 19a: Häutchenpräparat wie bei Abb. 18a, jedoch von einem Versuchstier 20 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans. In Bildmitte drei tetraploide Zellkerne.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

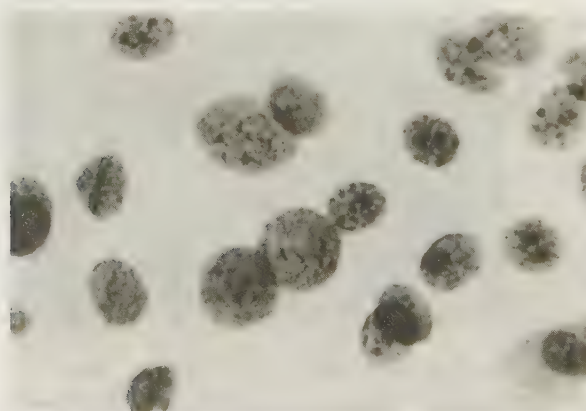


Abb. 19b: Detailvergrößerung der Abb. 19a mit den drei tetraploiden Zellkernen in Bildmitte.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 1345 x

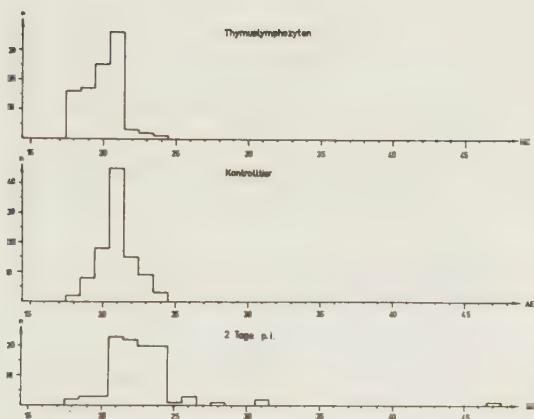


Abb. 20a: Anzahl (n) FEULGEN-gefärbter Zellkerne der Membrana synovialis eines Kontrolltieres und eines Versuchstieres 2 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans in Beziehung zu ihrem zytophotometrisch bestimmten DNS-Gehalt. DNS-Gehalt ist in Arbeitseinheiten (AE) notiert. In gleicher Weise bestimmte Werte von Thymuslymphozyten dienen als Bezugsgröße für einen diploiden DNS-Gehalt. Tage p.i. = Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans.

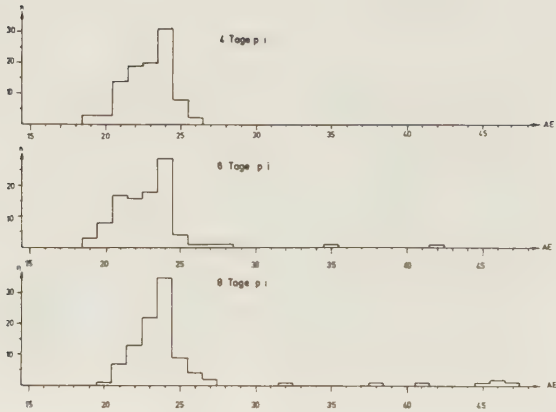


Abb. 20b: Siehe Abb. 20a.

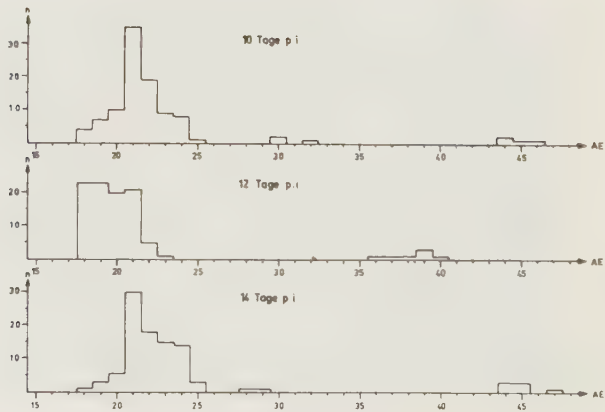


Abb. 20c: Siehe Abb. 20a.

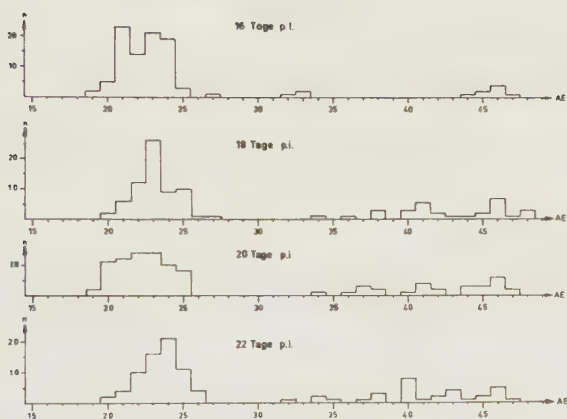


Abb. 20d: Siehe Abb. 20a.

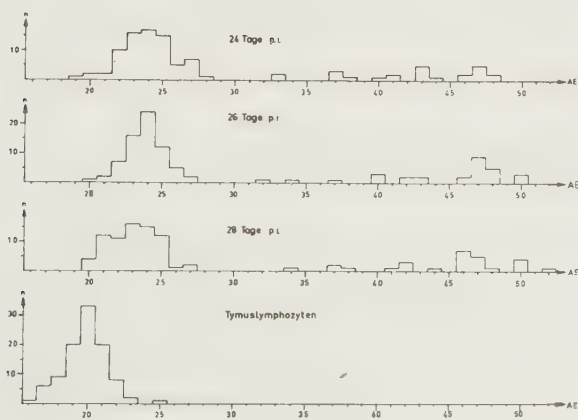


Abb. 20e: Siehe Abb. 20a.

4,12 Regionäre Lymphknoten

4,121 Primärreaktionen

4,1211 Makroskopische Befunde

2 Tage nach intraplantarer Injektion von **komplettem FREUND-**schen Adjuvans erkennt man eine geringe Rötung und Vergrößerung der poplitealen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfote.

4 Tage nach Injektion sind die poplitealen Lymphknoten erheblich vergrößert. Sie besitzen fleckförmige subkapsuläre Blutungen. Nun findet man auch eine geringe Vergrößerung der inguinalen Lymphknoten auf der gleichen Seite. In den folgenden Tagen treten auch bei diesen Lymphknoten, die jetzt ebenfalls erheblich vergrößert sind, subkapsuläre Blutungen auf, die jedoch nicht bei allen Tieren nachweisbar sind.

Zunächst stellt man nach der Injektion eine annähernd lineare Zunahme des Gewichtes der poplitealen und inguinalen Lymphknoten fest. Ihr Gewicht beträgt 12 Tage nach Injektion das 14fache des Gewichtes entsprechender Lymphknoten von Kontrolltieren. Danach verringert sich jedoch wieder ihr Gewicht bis zum 20. Tag nach Injektion. Danach nimmt es allerdings wieder bis zum Ende des Versuches zu (Abb. 21).

4,1212 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 4)

Zu keinem Zeitpunkt nach der Injektion läßt sich in der Rinde des poplitealen und der inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfote eine Formation von Follikeln feststellen.

2 Tage nach Injektion findet man im perilymphatischen Fettgewebe und in der Kapsel dieser Lymphknoten Fettvakuolen, die ähnlich wie in Abb. 6 von einem Wall dicht gelagerter Granulozyten umgeben werden, an den sich nach außen eine Zone weniger dicht gelagerter Granulozyten sowie Fibroblasten

anschließen. Diese Ölgranulome bleiben bis zum Ende des Versuches nachweisbar.

Am 4. Tag nach Injektion sowie an allen folgenden Tagen treten sie auch im Randsinus und in der roten Pulpa dieser Lymphknoten auf.

Nach dem 14. Versuchstag treten sie allerdings nicht mehr so häufig auf wie an den vorausgegangenen Tagen.

In den Sinus dieser Lymphknoten, die in den ersten 8 Versuchstagen besonders stark erweitert sind, treten vermehrt Histiozyten auf (Sinushistiozytose)(Abb. 22).

Am 4. Tag nach Injektion sowie an allen folgenden Tagen findet man zwischen den Sinus massenhaft Plasmazellen, so daß sich die kleinen Lymphozyten nur noch in wenigen Arealen nachweisen lassen. Diese Bezirke sind scharf gegen die sie umgebenden Plasmazellansammlungen abgegrenzt (Abb. 23).

Am 8. Tag, noch ausgeprägter am 12. Tag nach Injektion sowie an allen folgenden Tagen treten in diesen Lymphknoten epitheloidzellige Granulome auf (Abb. 24). Einige dieser Granulome enthalten neben Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen.

Tage nach Injektion	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-	-
2	-	(+)	+	-	+	-	-
4	-	(+)	+	++	++	-	--
6	-	(+)	+	++	++	-	-
8	-	(+)	+	++	++	(+)	-
10	-	-	+	++	++	-	-
12	-	-	+	++	++	++	-
14	-	-	+	++	+	+	-
16	-	-	+	+	+	++	-
18	-	-	+	++	++	++	-
20	-	-	+	+	+	++	+
22	-	-	+	++	+	++	+
24	-	-	+	++	++	++	+
26	-	-	+	++	+	++	-
28	-	-	+	++	+	++	-

Tab. 4: Veränderungen in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfote in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion. I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterung der Sinus. III = Auftreten von Histiozyten in den Sinus. IV = Auftreten von Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Granulome aus Epitheloidzellen. VII = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen, (+) = geringe, + = mittelgradige, ++ = starke Ausprägung der unter I bis VII beschriebenen Veränderungen.

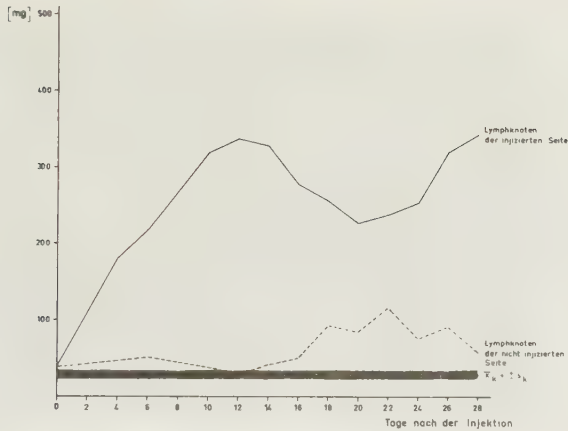


Abb. 21: Frischgewicht der politealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten und der nicht injizierten Hinterpfote in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans. $\bar{x}_K + \pm s_K$ = Mittelwert und Streuung der Frischgewichte entsprechender Lymphknoten von 50 Kontrolltieren.

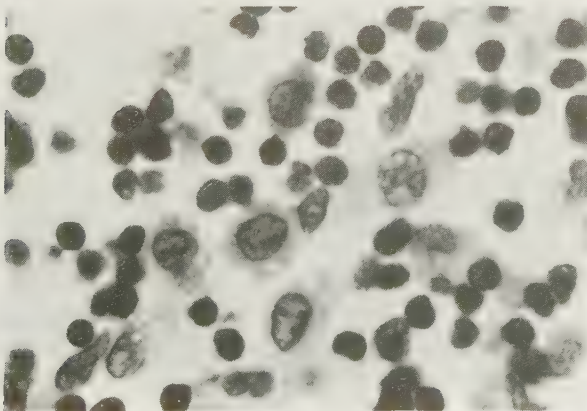


Abb. 22: Histiozyten (große Zellen) in erweiterten Lymphknotensinus (Sinushistiozytose).

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 1345 x

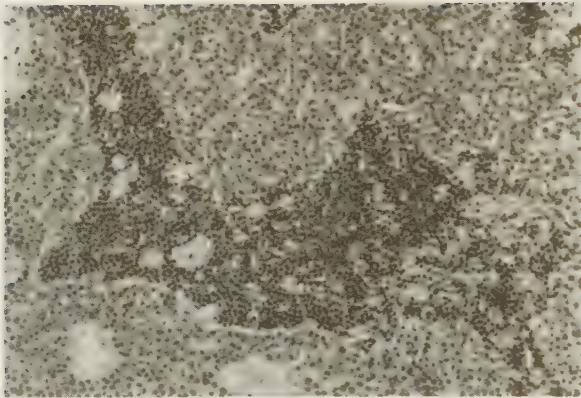


Abb. 23: Plasmazellansammlung in der Pulpa der regionären Lymphknoten nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans. Bildmitte: Ansammlung kleiner Lymphozyten, die von einer massiven Plasmazellansammlung umgeben wird.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

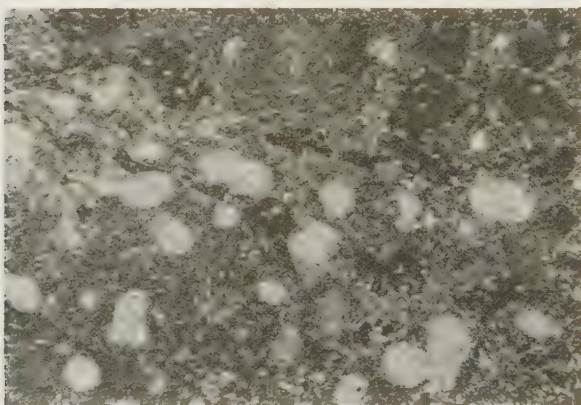


Abb. 24: Epitheloidzellige Granulome (helle Bezirke) in den regionären Lymphknoten 28 Tage nach Injektion.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 34 x

4,122 Sekundärreaktionen

4,1221 Makroskopische Befunde

Bis zum 14. Tag nach Injektion erkennt man lediglich eine geringgradige Gewichtszunahme des poplitealen und der inguinalen Lymphknoten der nicht injizierten Seite. In den folgenden Tagen kommt es zu einer erheblichen Vergrößerung dieser Lymphknoten (Abb. 25 und 26). Hierbei erreichen sie Gewichte, die das 5,7fache des durchschnittlichen Gewichtes entsprechender Lymphknoten von Kontrolltieren betragen (Abb. 21).

4,1222 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 5)

In den poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der nicht injizierten Hinterpfote läßt sich keine Anordnung von Lymphozyten in Form von Follikeln erkennen.

Am 6. Tag nach Injektion sowie an den folgenden Tagen bis zum Ende des Versuches treten erweiterte Sinus auf, die vermehrt Histiozyten enthalten (Sinushistiozytose).

Am 14. Tag nach Injektion, noch ausgeprägter an den folgenden Tagen treten massenhaft Plasmazellen zwischen den Sinus auf. In diesen Plasmazellansammlungen findet man nur noch wenige Areale, in denen dicht gelagerte kleine Lymphozyten vorhanden sind. Diese Bezirke sind scharf gegen die sie umgebenden Plasmazellen abgegrenzt (Abb. 27).

Epitheloidzellige Granulome lassen sich am 14. Tag nach Injektion sowie an den folgenden Tagen nur ganz vereinzelt nachweisen.

Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten, lassen sich dagegen nicht finden. LANGHANSsche Riesenzellen treten ebenfalls nicht auf.

Tage nach Injektion	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
6	-	(+)	(+)	-	-	-	-
8	-	(+)	(+)	-	-	-	-
10	-	(+)	(+)	-	-	-	-
12	-	(+)	+	-	-	-	-
14	-	+	+	(+)	-	(+)	-
16	-	+	+	+	-	-	-
18	-	+	+	++	-	(+)	-
20	-	+	+	++	-	(+)	-
22	-	+	+	++	-	-	-
24	-	+	+	++	-	-	-
26	-	+	+	++	-	-	-
28	-	+	+	++	-	(+)	-

Tab. 5: Veränderungen der poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der nicht injizierten Hinterpfote in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion.

I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterung der Sinus. III = Vermehrtes Auftreten von Histiozyten in den Sinus. IV = Auftreten von Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Granulome aus Epitheloidzellen. VII = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen, (+) = geringe, + = mittelgradige, ++ = starke Ausprägung der unter I bis VII beschriebenen Veränderungen.

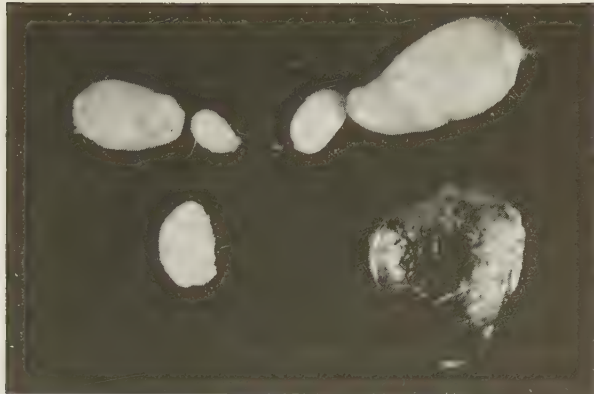


Abb. 25: Popliteale und inguinale Lymphknoten 16 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans in eine Hinterpfote. Rechts oben: Inguinales Lymphknotenpaar auf der Seite der injizierten Hinterpfote. Darunter: Poplitelaer Lymphknoten derselben Seite. Linke Bildhälfte: Entsprechende Lymphknoten der nicht injizierten Seite.

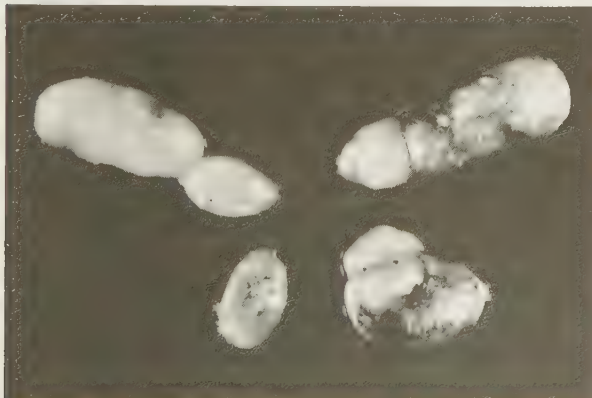


Abb. 26: Popliteale und inguinale Lymphknoten (Anordnung wie in Abb. 25) 24 Tage nach Injektion. Die Vergrößerung der Lymphknoten der nicht injizierten Seite tritt deutlicher hervor.

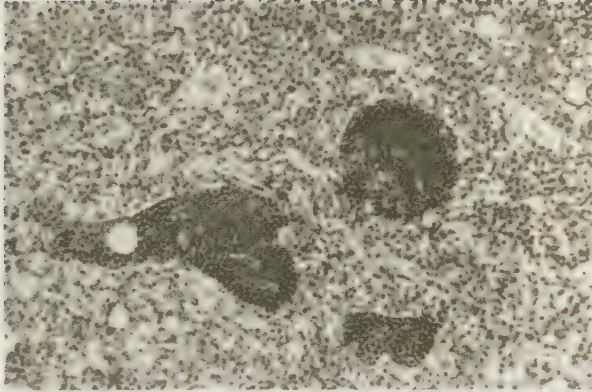


Abb. 27: Inguinaler Lymphknoten der nicht injizierten Seite
18 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem
FREUNDschem Adjuvans. Drei Bezirke dicht gelagerter
kleiner Lymphozyten, umgeben von einer massiven Plas-
mazellansammlung.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

4,123 Chemische Untersuchungen

Bestimmt man bei 10 Ratten 8 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans das Gewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten der injizierten Seite, so findet man gegenüber den entsprechenden Lymphknoten einer Kontrollgruppe eine Gewichtszunahme auf annähernd das 8,5fache (Tab. 6).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Lymphknotengewicht (mg)	$\bar{X} = 27,08$ $s = \pm 4,150$	$\bar{X} = 228,65$ $s = \pm 72,188$

Tab. 6: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte der Versuchstiere nach intraplantarer Injektion und der Kontrolltiere.

Vergleicht man die Mittelwerte der Lymphknotengewichte dieser beiden Untersuchungsgruppen, so errechnet sich bei gegebener Varianzheterogenität nach dem t-Test ein signifikanter Mittelwertunterschied bei einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 %.

Bestimmt man den DNS-, RNS-, Polysaccharid- und Proteingehalt in den Lymphknoten dieser beiden Untersuchungsgruppen, so findet man eine Steigerung des DNS-Gehaltes der Versuchsgruppe auf das 5,1fache. Der RNS-Gehalt ist auf das 7,4fache, der Polysaccharidgehalt auf das 6,4fache und der Proteingehalt auf das 8,5fache gegenüber der Kontrollgruppe vermehrt (Tab. 7).

Gruppe	DNS (μ g)	RNS (μ g)	Polysaccharide (μ g)	Proteine (mg)
Kontroll- tiere	$\bar{X}$ = 454 s = $\pm$ 116,80	$\bar{X}$ = 310 s = $\pm$ 57,78	$\bar{X}$ = 57 s = $\pm$ 8,38	$\bar{X}$ = 3,1 s = $\pm$ 0,403
Versuchs- tiere	$\bar{X}$ = 2295 s = $\pm$ 586,34	$\bar{X}$ = 2308 s = $\pm$ 677,97	$\bar{X}$ = 365 s = $\pm$ 84,54	$\bar{X}$ = 26,2 s = $\pm$ 8,931

Tab. 7: Gesamtgehalt an DNS, RNS, Polysacchariden und Proteinen der Lymphknoten der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe.

Für die einzelne Zelle der Lymphknoten der Versuchsgruppe errechnet sich, wenn man die für die Berechnung notwendige, jedoch stark vereinfachte Annahme trifft, daß alle Zellen diploid sind und somit einen DNS-Gehalt von 6×10^{-12} g besitzen, ein RNS-Gehalt, der das 1,5fache, ein Polysaccharidgehalt, der das 1,3fache und ein Proteingehalt, der das 1,6fache des entsprechenden Wertes der Kontrollgruppe beträgt (Tab. 8). Diese Unterschiede sind statistisch signifikant.

Chemisch bestimmte Substanzen der Einzel- zelle der Lymphknoten	Kontroll- gruppe	Versuchs- gruppe
DNS	$6,000 \times 10^{-12}$ g	$6,000 \times 10^{-12}$ g
RNS	$4,097 \times 10^{-12}$ g	$6,033 \times 10^{-12}$ g
Polysaccharide	$0,753 \times 10^{-12}$ g	$0,951 \times 10^{-12}$ g
Proteine	$43,612 \times 10^{-12}$ g	$68,498 \times 10^{-12}$ g

Tab. 8: DNS-, RNS-, Polysaccharid- und Proteingehalt der Einzelzelle der Lymphknoten.

Betrachtet man den RNS-Gehalt der einzelnen Lymphknoten in Abhängigkeit zum DNS-Gehalt dieser Lymphknoten, so erkennt man sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Versuchsgruppe eine lineare Beziehung zwischen den Mengen beider Substanzen (Abb. 28).

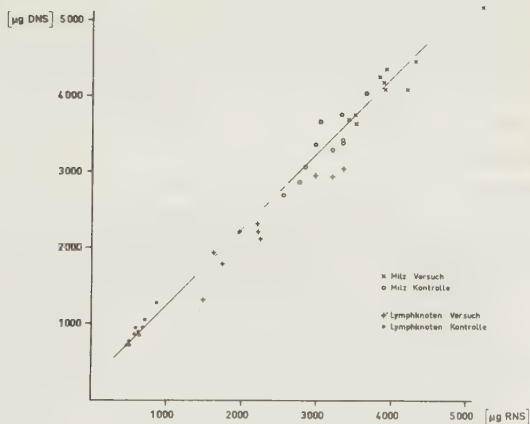


Abb. 28: RNS-Gehalt der Milz und der poplitealen und inguinalen Lymphknoten 8 Tage nach intraplanter Injektion des kompletten FREUNDschen Adjuvans in Beziehung zum DNS-Gehalt derselben Organe.
Anzahl der Tiere: 10 Versuchstiere und 10 Kontrolltiere.

4,13 Milz

4,131 Makroskopische Befunde

Aus einer Gruppe von Kontrolltieren errechnet sich für 3 bis 4 Monate alte Ratten ein durchschnittliches Milzgewicht von 615,91 mg mit einer Streuung von $\pm 30,59$ mg. Während das Milzgewicht 2 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans dem durchschnittlichen Milzgewicht entspricht, findet sich 4 Tage nach Injektion ein Anstieg des Milzgewichtes auf 735,56 mg. In den folgenden Tagen schwankt das Milzgewicht zwischen 810,25 mg und 954,30 mg. In einem einzigen Fall ließ sich sogar ein Milzgewicht von 1479,77 mg ermitteln.

Einzelne dieser vergrößerten Milzen besitzen in ihren Kapseln derbe grauweiße bis zu 1 mm im Durchmesser große Granulome. Am 26. Tag nach Injektion sowie am 28. Tag sinkt das Milzgewicht wieder unter 765 mg (Abb. 29).

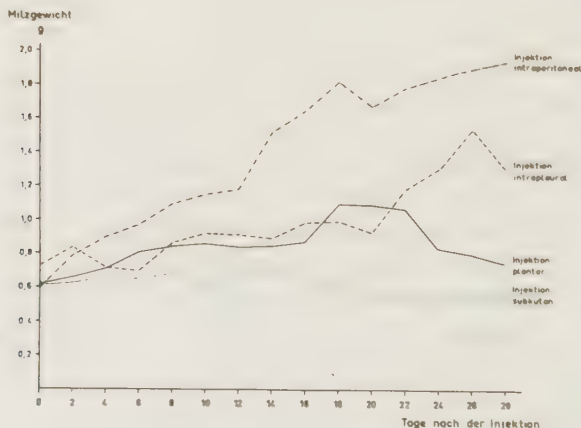


Abb. 29: Verhalten des Milzgewichtes in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans bei verschiedenen Applikationsorten.

4,132 Mikroskopische Befunde

Während sich bis zum 4. Tag nach Injektion keine Veränderungen in den Milzen nachweisen lassen und eine regelrechte Verteilung zwischen roter und weißer Pulpa vorliegt, erkennt man in den folgenden Tagen in der roten Pulpa Blutbildungsherde mit Riesenzellen (Abb. 30a - b und Abb. 31). Diese Blutbildungsherde nehmen bis zum 20. Tag nach Injektion an Größe und Menge zu. In den folgenden Tagen läßt sich wieder eine Abnahme der Blutbildungsherde feststellen. Die bereits makroskopisch sichtbaren, in den Kapseln einzelner vergrößerter Milzen gefundenen Granulome bestehen aus Epitheloidzellen.

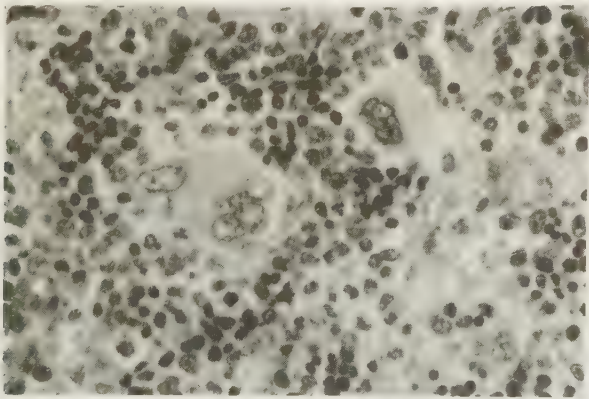


Abb. 30a: Blutbildungsherde der Milz: Riesenzellen (Megakaryozyten) in der Mitte der Abbildung.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung 538 x

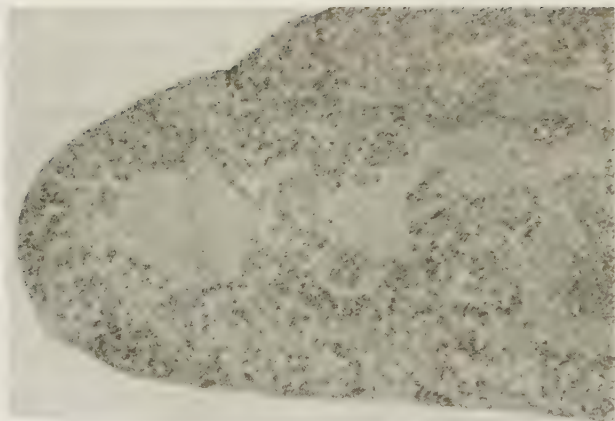


Abb. 30b: Über die gesamte rote Pulpa der Milz verstreute kleine Blutbildungsherde.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 34 x

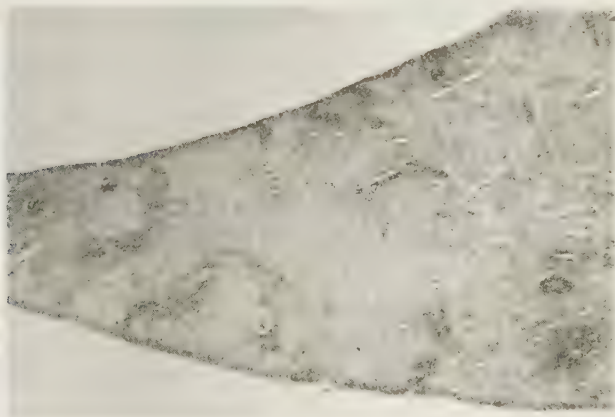


Abb. 31 : Milz eines Kontrolltieres ohne Blutbildungsherde.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 34 x

4.133 Chemische Untersuchungen

Bestimmt man 8 Tage nach intraplanter Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans bei 10 Ratten das durchschnittliche Milzgewicht, so findet man gegenüber dem entsprechenden Wert einer Kontrollgruppe eine geringe Gewichtszunahme auf das 1,06fache (Tab. 9).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Milzgewicht (mg)	$\bar{X} = 692,20$ $s = \pm 66,91$	$\bar{X} = 737,10$ $s = \pm 72,00$

Tab. 9: Mittelwerte und Streuungen der Milzgewichte der Versuchstiere nach intraplanter Injektion und der Kontrolltiere.

Vergleicht man die Mittelwerte der Milzgewichte dieser beiden Untersuchungsgruppen, so läßt sich bei gegebener Varianzhomogenität nach dem t-Test kein signifikanter Mittelwertsunterschied nachweisen, auch wenn man eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % annimmt.

Bestimmt man den DNS-, RNS-, Polysaccharid- und Proteingehalt in den Milzen dieser beiden Untersuchungsgruppen, so findet man eine Steigerung des DNS-Gehaltes der Versuchsgruppe auf das 1,24fache. Der RNS-Gehalt ist auf das 1,29fache, der Polysaccharidgehalt auf das 1,40fache und der Proteingehalt auf das 1,03fache gegenüber der Kontrollgruppe vermehrt (Tab. 10).

Gruppe	DNS (μ g)	RNS (μ g)	Polysaccharide (μ g)	Proteine (mg)
Kontrolltiere	$\bar{X} = 3365$ $s = \pm 409,50$	$\bar{X} = 3104$ $s = \pm 329,84$	$\bar{X} = 506$ $s = \pm 69,63$	$\bar{X} = 111,6$ $s = \pm 12,438$
Versuchstiere	$\bar{X} = 4185$ $s = \pm 454,97$	$\bar{X} = 3967$ $s = \pm 521,37$	$\bar{X} = 706,27$ $s = \pm 104,27$	$\bar{X} = 114,9$ $s = \pm 10,335$

Tab. 10: Gesamtgehalt an DNS, RNS, Polysacchariden und Proteinen der Milzen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe.

Für die einzelne Zelle der Milzen der Versuchsgruppe errechnet sich, wenn man die für die Berechnung notwendige, jedoch stark vereinfachte Annahme trifft, daß alle Zellen diploid sind und einen DNS-Gehalt von 6×10^{-12} g haben, ein RNS-Gehalt, der das 1,03fache, ein Polysaccharidgehalt, der das 1,10fache und ein Proteingehalt, der das 0,87fache des entsprechenden Wertes der Kontrollgruppe beträgt (Tab. 11).

Chemisch bestimmte Substanzen der Einzelzelle der Milzen	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
DNS	$6,000 \times 10^{-12}$ g	$6,000 \times 10^{-12}$ g
RNS	$5,535 \times 10^{-12}$ g	$5,687 \times 10^{-12}$ g
Polysaccharide	$0,920 \times 10^{-12}$ g	$1,012 \times 10^{-12}$ g
Proteine	$190,074 \times 10^{-12}$ g	$164,731 \times 10^{-12}$ g

Tab. 11: DNS-, RNS-, Polysaccharid- und Proteingehalt der Einzelzelle der Milzen.

Betrachtet man den RNS-Gehalt der einzelnen Milzen in Abhängigkeit zum DNS-Gehalt dieser Milzen, so erkennt man sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Versuchsgruppe eine lineare Beziehung zwischen den Mengen beider Substanzen (Abb. 28).

4,14 Veränderungen in anderen Organen

4,141 Lungen

4,1411 Makroskopische Befunde

12 Tage nach intraplantarer Injektion finden sich subpleural gelegene bis zu 0,3 mm im Durchmesser große derbe grauweiße Knötchen, die in den folgenden Tagen zahlenmäßig zunehmen und am 24. Tag nach Injektion einen Durchmesser von etwa 1 mm erreichen.

4,1412 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 12)

Bis zum 6. Tag nach Injektion findet sich ein normal gestaltetes Lungengewebe. 2 Tage später treten im peripheren Lungengewebe peribronchiale Rundzellinfiltrate auf, die aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehen (Abb. 32). Vom 12. bis zum 14. Tag nach Injektion nehmen diese Rundzellinfiltrate erheblich an Größe zu, nach dem 20. Tag bis zum Ende des Versuches werden sie wiederum kleiner und treten seltener auf. Am 18. Tag nach Injektion erkennt man im Lungengewebe Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. Diese Granulome, die keine Fettvakuolen enthalten, sind am 24. Tag nach Injektion vergrößert und vermehrt. Eine Vergrößerung der peribronchialen Lymphknoten läßt sich nicht nachweisen.

Tage nach Injektion	I	II	III
Kontrolltiere	-	-	-
2	-	-	-
4	-	-	-
6	-	-	-
8	-	+	-
10	-	+	-
12	-	++	-
14	-	++	-
16	-	++	-
18	-	++	+
20	-	+	-
22	-	+	-
24	-	+	++
26	-	+	-
28	-	+	-

Tab. 12: Veränderungen in den Lungen in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans. I = Vergrößerung der peribronchialen Lymphknoten. II = Periphere peribronchiale Rundzellularinfiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen. III = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen, + = geringe Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I, II und III beschriebenen Veränderungen.

4,142 Leber

Bis zum 10. Tag nach Injektion lassen sich in der Leber keine Veränderungen nachweisen.

12 Tage nach Injektion finden sich ganz vereinzelt epitheloid-zellige Granulome, die in ihren Randbezirken vermehrt Lymphozyten besitzen und von einer Zone atrophischer Leberzellen umgeben sind (Abb. 33). Diese Leberzellen besitzen pyknotische Zellkerne und verfügen über ein stärker eosinrotes Zytoplasma. Bis zum 16. Tag nach Injektion nehmen diese Granulome erheblich an Größe und Zahl zu. Vom 18. Tag nach Injektion an werden sie wieder kleiner, nach dem 24. Tag verringert sich zusätzlich ihre Zahl.

4,143 Thymus

Makroskopisch lassen sich am Thymus der injizierten Tiere keine Veränderungen nachweisen. Das durchschnittliche Thymusgewicht beträgt 452,8 mg mit einer Streuung von $\pm$ 91,31 mg. Mikroskopisch findet sich ein läppchenartiger Aufbau mit Bindegewebssepten zwischen den einzelnen Läppchen. Die Rinde ist deutlich gegen das Mark abgegrenzt (Abb. 34). In einigen Bezirken finden sich vereinzelt HASSALLsche Körperchen.

4,144 Körpergewicht

Bestimmt man das Körpergewicht der einzelnen Tiere am Ende des Versuches und vergleicht es mit dem Körpergewicht am Anfang des Versuches, so findet man bei 10 der 16 Tiere eine Gewichtszunahme von durchschnittlich 0,56 - 1,81 g/die. Diese Werte sind etwas geringer als die entsprechenden Werte von Kontrolltieren. Eines der Versuchstiere zeigt keine Gewichtszunahme, während 4 Versuchstiere eine Gewichtsabnahme von durchschnittlich 0,13 - 0,88 g/die aufweisen. Ein Versuchstier zeigt sogar eine tägliche Gewichtsabnahme von 1,60 g. Diese Schwankungen in der Gewichtszunahme der behandelten Ratten lassen keine gesetzmäßige Abhängigkeit von der Zeitdauer nach der Injektion erkennen (Abb. 35). Dagegen sieht man, daß die Gewichtsabnahme um so stärker ist, je ausgeprägter die entzündliche Primärreaktion an der injizierten Hinterpfote und an den übrigen Organen ist.



Abb. 32: Rundzellinfiltrat (Lymphozyten und Plasmazellen)
in der Lunge.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

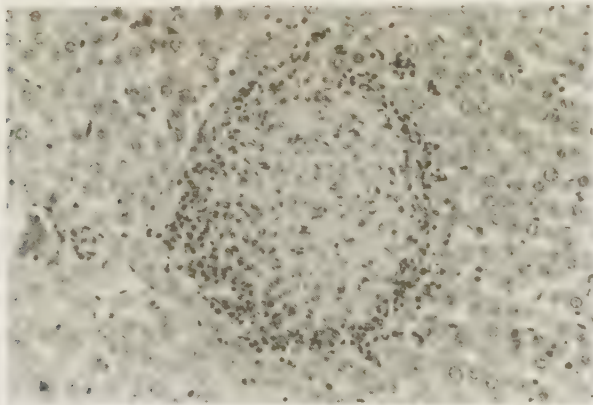


Abb. 33: Epitheloidzelliges Granulom in der Leber mit Lympho-
zytenansammlung im Randbereich und atrophischen
Leberzellen in unmittelbarer Nachbarschaft.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

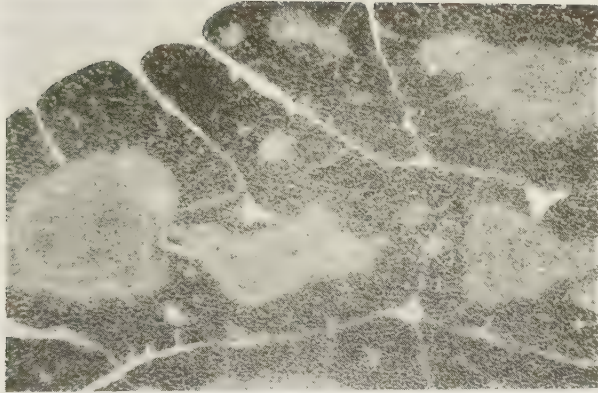


Abb. 34: Thymus eines Versuchstieres mit läppchenartigem Aufbau und Bindegewebssepten zwischen den einzelnen Läppchen sowie einer deutlichen Abgrenzung der Rinde gegen das Mark.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 34 x

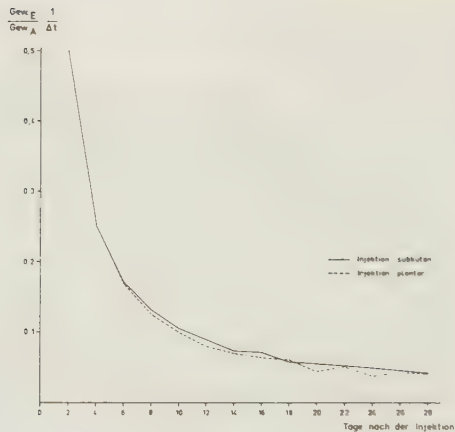


Abb. 35: Körpergewichtsverhalten in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. Um bei unterschiedlichem Ausgangsgewicht und unterschiedlich langer Versuchsdauer der einzelnen Tiere dennoch einen Vergleich zwischen dem jeweiligen Versuchstier und dem entsprechenden Kontrolltier durchführen zu können, wurde für jedes Versuchstier der Quotient ermittelt aus seinem Gewicht, das es am Ende des Versuches (Gew_E) besaß und seinem Gewicht zu Versuchsbeginn (Gew_A). Dieser Wert wurde durch die Anzahl der Versuchstage der einzelnen Tiere dividiert. Als Kontrolltiere dienten die Tiere des Versuches 4,5, denen das komplette FREUNDSche Adjuvans subkutan injiziert wurde. Der aus dem Anfangsgewicht, dem Endgewicht und der Versuchsdauer errechnete Wert liegt nach intraplantarer Injektion am 6. Versuchstag sowie an allen folgenden Tagen deutlich unter dem entsprechenden Wert, der nach subkutaner Injektion ermittelt wurde.

4,2 Intraplantare Injektion von komplettem FREUNDSchem
Adjuvans nach vorheriger Milzexstirpation

4,21 Gelenke

4,211 Primärreaktionen

4,2111 Makroskopische Befunde

Innerhalb von 2 Tagen nach intraplanter Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans nach vorausgegangener Milzexstirpation entwickelt sich an der injizierten Hinterpfote eine blaurötliche Verfärbung sowie eine Schwellung. Diese Veränderungen nehmen an den folgenden Tagen zu. Die Schwellung breitet sich vom Mittelfuß sowohl zum Tarsalgelenk als auch zu den Phalangen hin aus. Hierdurch kommt es zu einer zunehmenden Bewegungseinschränkung. Die Ratten halten jetzt die injizierte Pfote in Spitzfußstellung. Da diese Haltung ständig beibehalten wird, berührt auch beim Laufen die Dorsalseite der Phalangen den Boden. 16 bis 18 Tage nach Injektion treten zunehmend größer werdende Ulcera an der injizierten Pfote auf, die zu scharf begrenzten Hautdefekten mit Krustenbildungen führen. 28 Tage nach der Injektion fällt bei der Obduktion der Ratten eine Atrophie des M. tibialis anterior auf der Seite der injizierten Hinterpfote auf.

4,2112 Mikroskopische Befunde

28 Tage nach Injektion findet man im subkutanen Binde- und Fettgewebe sowie zwischen den Muskelfasern der injizierten Hinterpfote bis an das Periost und die Gelenkkapsel reichende entzündliche Infiltrate. Diese bestehen aus Fettvakuolen, die von einem Wall dicht gelagerter Granulozyten umgeben sind. Daran schließen sich nach außen neben Granulozyten vor allem Histiozyten, Fibroblasten und Lymphozyten an. Weiterhin findet man epitheloidzellige Granulome und LANGHANSsche Riesenzellen. Bei 2 der 5 Versuchstiere ist die entzündliche Komponente nicht so stark ausgeprägt. Hier findet man nur noch

wenige Granulozyten, dagegen vermehrt Histiozyten, Lymphozyten und eine starke Proliferation von Fibroblasten sowie ebenfalls epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen.

An fast allen Gelenken kommt es zur Ausbildung eines Markpannus und eines Kapselpannus, die den Gelenkknorpel und den subkartilaginären Knochen weitgehend zerstört haben. In der Nähe des zerstörten Gelenkknorpels treten Knorpelregenerate auf. Weiterhin kommt es zur massiven periostalen Knochenneubildung und zur Ausbildung einer fibrösen Ankylose.

4,212 Sekundärreaktionen

4,2121 Makroskopische Befunde

12 Tage nach Injektion erkennt man im Bereich der Mittelfoten und der Phalangen der nicht injizierten Pfoten eine zunehmende Rötung und Schwellung. Diese Veränderungen lassen sich 4 Tage später auch an den Karpal- und Tarsalgelenken nachweisen. Sie führen hier zu einer meßbaren Zunahme der Gelenkdurchmesser (Abb. 36). Mit zunehmender Schwellung kommt es zu einer geringen Bewegungseinschränkung dieser Gelenke, vor allem der Gelenke der Hinterpfoten. Diese ist jedoch nicht so ausgeprägt wie die an der injizierten Pfote. Ulzerationen treten an den nicht injizierten Pfoten nicht auf.

4,2122 Mikroskopische Befunde

In der Gelenkkapsel sowie im periartikulären Gewebe der nicht injizierten Hinterpfoten findet man perivaskuläre Zellinfiltrate, die aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. In einigen Gelenken findet man eine starke Proliferation von Synovialzellen. In anderen Gelenken kommt es zusätzlich zur Ausbildung eines Kapselpannus, vereinzelt auch eines Markpannus. Hierbei tritt eine Zerstörung des Gelenkknorpels und des subkartilaginären Knochens auf sowie eine ausgeprägte periostale Knochenneubildung.

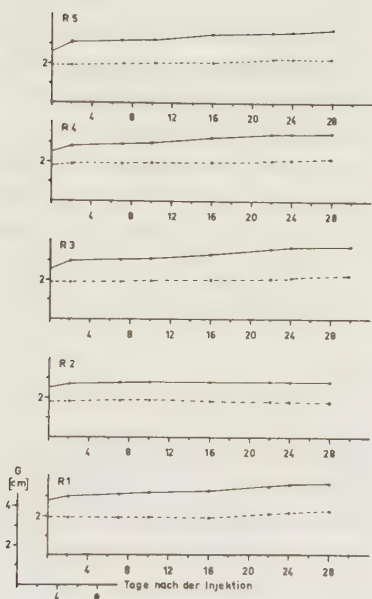


Abb. 36: Durchmesser der Karpal- und Tarsalgelenke nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans und vorausgegangener Milzexstirpation in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion.

R₁ bis R₅ = Nummern der 5 Versuchstiere. Weitere Erklärungen: Siehe Abb. 13.

4.213 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen

28 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans nach vorausgegangener Milzexstirpation findet man in der Membrana synovialis der Kniegelenke einen einschichtigen geschlossenen Zellverband. Seine Zellen sind

zytoplasmareich und verfügen über einen runden oder ovalen Zellkern mit einem locker strukturiertem Chromatingerüst. Diese Zellkerne besitzen einen diploiden DNS-Gehalt. Daneben findet man erheblich vergrößerte Zellkerne mit zum Teil deutlich hervortretendem Chromatingerüst. Diese Zellkerne befinden sich in der DNS-Synthesephase oder verfügen bereits über einen tetraploiden DNS-Gehalt.

28 Tage nach Injektion besitzen 80,40 % aller gemessenen Zellkerne des Stratum synoviale der Kniegelenke einen diploiden DNS-Gehalt. 5,40 % dieser Zellkerne befinden sich in der DNS-Synthesephase, während 14,20 % über einen tetraploiden DNS-Gehalt verfügen (Tab. 13 und Abb. 37 a-b).

Tiernummer	Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (%)	Zellkerne in der Synthesephase (%)	Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt (%)
Kontrolltiere	100	0	0
R ₁	77	8	15
R ₂	90	3	7
R ₃	78	4	18
R ₄	79	6	15
R ₅	78	6	16

Tab. 13: Prozentualer Anteil der Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt, der Zellkerne in der Synthesephase und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt der einzelnen Versuchstiere 28 Tage nach intraplantarer Injektion vom komplettem FREUNDschem Adjuvans nach vorausgegangener Milzexstirpation.

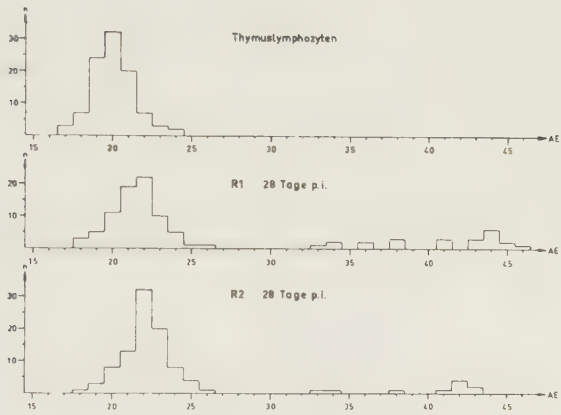


Abb. 37a: Anzahl (n) FEULGEN-gefärbter Zellkerne der Membrana synovialis 28 Tage nach intraplantarer Injektion (p. i.) von komplettem FREUNDschem Adjuvans in Beziehung zu ihrem zytophotometrisch bestimmten DNS-Gehalt.

DNS-Gehalt ist in Arbeitseinheiten (AE) notiert. In gleicher Weise bestimmte Werte von Thymuslymphozyten dienen als Bezugsgröße für einen diploiden DNS-Gehalt.

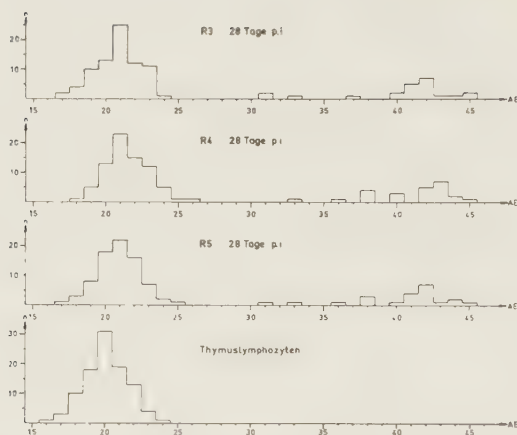


Abb. 37b: Siehe Abb. 37a.

4,22 Regionäre Lymphknoten

4,221 Primärreaktionen

4,2211 Makroskopische Befunde

Die politealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfoten sind am 28. Tag nach Injektion nach vorausgegangener Milzexstirpation erheblich vergrößert. Ihr Burschnittsgewicht beträgt das 10,3fache des Gewichtes entsprechender Lymphknoten von Kontrolltieren (Tab. 14). Sie besitzen punktförmige und fleckförmige Blutungen. Die gleichen Veränderungen findet man auch an den lumbalen Lymphknoten.

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Lymphknotengewicht (mg)	$\bar{X} = 28,20$ $s = \pm 4,63$	$\bar{X} 291,10$ $s = \pm 85,43$

Tab. 14: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe.

4,2212 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 15)

Auf der Seite der injizierten Hinterpfote findet man in der Rinde der poplitealen und der inguinalen Lymphknoten ausgeprägte Formationen von Foälikeln. Die Sinus dieser Lymphknoten sind erweitert und enthalten vermehrt Histiozyten. Zwischen den Sinus erkennt man eine massive Ansammlung von Plasmazellen, in die herdförmige Bezirke von kleinen Lymphozyten eingelagert sind. Sowohl in der Kapsel als auch in der Rinde dieser Lymphknoten findet man unterschiedlich große Fettvakuolen, die von einem dünnen Saum von Granulozyten sowie von Fibroblasten umgeben sind. In allen Bezirken dieser Lymphknoten findet man sehr viele epitheloidzellige Granulome, von denen einige außer Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen enthalten.

Tier	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-	-
R ₁	+	-	+	++	(+)	++	-
R ₂	+	-	+	++	+	++	-
R ₃	+	-	+	++	+	++	+
R ₄	+	-	+	++	+	++	+
R ₅	+	-	+	++	+	++	+

Tab. 15: Veränderungen in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfote 28 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans nach vorausgegangener Milzexstirpation.

I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterung der Sinus. III = Vermehrtes Auftreten von Histiozyten in den Sinus. IV = Auftreten von Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Granulome aus Epitheloidzellen. VII = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen. (+) = geringe Ausprägung. + = mittelgradige Ausprägung. ++ = starke Ausprägung der unter I bis VII beschriebenen Veränderungen.

4,222 Sekundärreaktionen

4,2221 Makroskopische Befunde

Die poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der nicht injizierten Hinterpfote sind grauweiß und besitzen keine subkapsulären Blutungen. Ihr Durchschnittsgewicht beträgt das 1,4fache des Durchschnittsgewichtes entsprechender Lymphknoten von Kontrolltieren (Tab. 16).

Lymphknotengewicht (mg)	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
	$\bar{X} = 28,20$ $s = + 4,63$	$\bar{X} = 39,10$ $s = \pm 15,03$

Tab. 16: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte auf der Seite der nicht injizierten Hinterpfote der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe.

4.2222 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 17)

In der Rinde der poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der nicht injizierten Hinterpfote läßt sich keine Formation von Follikeln nachweisen. Die Sinus dieser Lymphknoten sind nur gering erweitert, sie enthalten jedoch vermehrt Histiozyten. Zwischen den Sinus treten viele dicht gelagerte Plasmazellen auf, in die herdförmig angeordnete Bezirke von kleinen Lymphozyten eingelagert sind. Fettvakuolen lassen sich in keinem der Lymphknoten nachweisen, dagegen findet man in allen Bereichen der Pulpa vermehrt epitheloidzellige Granulome, die jedoch keine LANGHANSschen Riesenzellen enthalten.

Tier	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-	-
R ₁	-	(+)	+	++	+	+	-
R ₂	-	(+)	(+)	+	-	(+)	-
R ₃	-	(+)	+	++	-	+	-
R ₄	-	(+)	+	++	-	+	-
R ₅	-	(+)	+	++	-	+	-

Tab. 17: Veränderungen der poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der nicht injizierten Hinterpfote. I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterte Sinus. III = Sinushistiozytose. IV = Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Epitheloidzellige Granulome. VII = Epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen. (+) = geringe Ausprägung. + = mittelgradige Ausprägung. ++ = starke Ausprägung der unter I bis VII beschriebenen Veränderungen.

4,23 Veränderungen in anderen Organen

4,231 Lungen (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 18)

Am 28. Tag nach Injektion sind die peribronchial gelegenen Lymphknoten nicht vergrößert. Weiterhin lassen sich keine Fettvakuolen nachweisen. Dagegen findet man vermehrt periphere peribronchiale Rundzellinfiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen. Epitheloidzellige Granulome treten ebenfalls häufiger auf. Bei einem der Versuchstiere erkennt man in diesen Granulomen außer Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen.

Tier	I	II	III	IV	V
Kontrolltiere	-	-	-	-	-
R ₁	-	+	-	+	-
R ₂	-	-	-	-	-
R ₃	-	+	-	+	+
R ₄	-	+	-	-	-
R ₅	-	+	-	+	-

Tab. 19: Veränderung in den Lungen der einzelnen Versuchstiere. I = Vergrößerung der peribronchialen Lymphknoten. II = Periphere peribronchiale Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen. III = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. IV = Epitheloidzellige Granulome. V = Epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen. + = mittelgradige Ausprägung der unter I bis V beschriebenen Veränderungen.

4,232 Leber

28 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUND-schem Adjuvans nach vorausgegangener Milzexstirpation findet man in der Leber eine geringe Zahl von epitheloidzelligen Granulomen. Diese besitzen in ihren Randbezirken neben Epitheloidzellen auch einen Wall locker gelagerter Lymphozyten. Die unmittelbar an diese Granulome angrenzenden Leberzellen sind atrophisch verändert.

4,233 Thymus

Das durchschnittliche Thymusgewicht der Versuchstiere beträgt 364,3 mg mit einer Streuung von $\pm 78,36$ mg. Dieses Gewicht entspricht dem von Kontrolltieren. Mikroskopisch lassen sich ebenfalls keine Veränderungen nachweisen. Man erkennt einen läppchenartigen Aufbau. Zwischen den Läppchen befinden sich Bindegewebssepten. Rinde und Mark sind deutlich gegeneinander abgegrenzt. In diesen beiden Bezirken finden sich vereinzelt HASSALLsche Körperchen.

4,234 Körpergewicht

Die durchschnittliche Gewichtszunahme der Versuchstiere pro Tag beträgt 0,857 g. Sie schwankt zwischen 0,21 g und 1,54 g. Diese Werte sind nur etwa halb so groß wie die entsprechenden Werte von Kontrolltieren.

4,3 Untersuchungen zur Bedeutung der regionären Lymphknoten (Übertragung von Lymphozyten)

4,31 Gelenke

4,311 Makroskopische Befunde

Nach intraplantarer Übertragung von Lymphozyten, die von den poplitealen und inguinalen Lymphknoten von Ratten stammen, denen 2 Tage vor der Entnahme dieser Lymphknoten komplettes FREUNDsches Adjuvans in die Fußsohle injiziert wurde, findet man bei den Empfängertieren (1. Gruppe) innerhalb von 28 Tagen nur eine geringe Zunahme der Durchmesser der Karpal- und Tarsalgelenke (Abb. 38).

Eine Rötung oder Bewegungseinschränkung dieser Gelenke tritt nicht auf.

Entnimmt man 4 bzw. 6 Tage nach Injektion diese Lymphknoten und überträgt ihre Lymphozyten, so findet man bei den Empfängertieren (2. bzw. 3. Gruppe) die gleichen Ergebnisse.

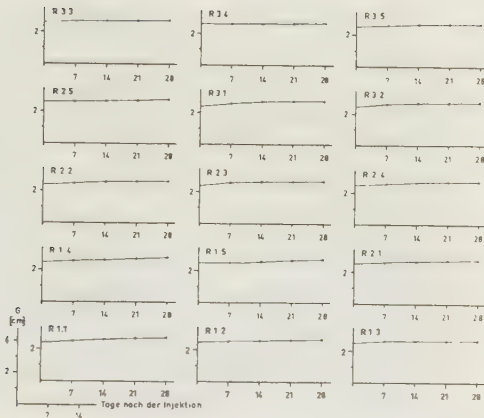


Abb. 38: Summe der Gelenkdurchmesser beider Karpal- und Tarsalgelenke (G) eines Empfängertieres in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Übertragung von sensibilisierten Lymphozyten. R1.1 bis R1.5 = Ratten der 1. Gruppe, R2.1 bis R2.5 = Ratten der 2. Gruppe, R3.1 bis R3.5 = Ratten der 3. Gruppe.

4,312 Mikroskopische Befunde

Während sich bei den Ratten der 1. Gruppe an den Hinterpfoten keine Veränderungen nachweisen lassen, findet man bei den Ratten der 2. Gruppe im subkutanen Binde- und Fettgewebe sowie in der Muskulatur und in der Membrana synovialis der Gelenke der injizierten Hinterpfoten Lymphozyten- und Plasmazellinfiltrate (Abb. 39).

Bei den Tieren der 3. Gruppe findet man wesentlich stärkere Zellinfiltrate in den gleichen Bereichen der Hinterpfoten. Diese bestehen vor allem aus Lymphozyten und Plasmazellen (Abb. 40). Gleichzeitig findet man bei einigen Tieren eine stärkere Proliferation von Synovialzellen. Dagegen läßt sich bei keinem Tier ein Markpannus oder Kapselpannus nachweisen.

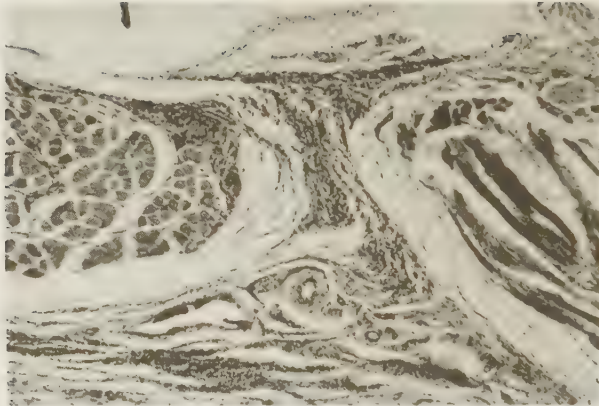


Abb. 39: Rundzellinfiltrate aus Lymphozyten, Histiocyten und Plasmazellen im subkutanen Bindegewebe und in der Muskulatur der Hinterpfote einer Ratte der 2. Gruppe. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 84 x

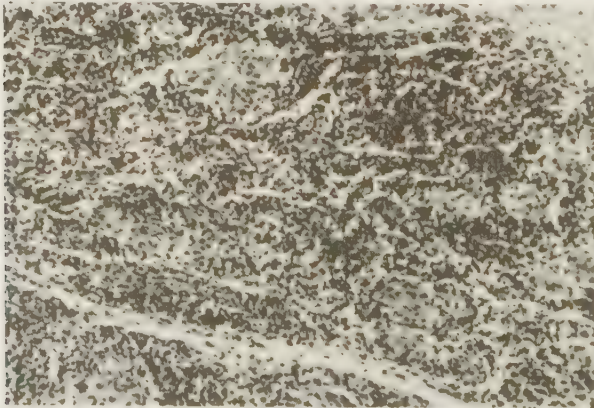


Abb. 40: Massive Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen im subkutanen Bindegewebe einer Ratte der 3. Gruppe. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

4,32 Regionäre Lymphknoten

4,321 Makroskopische Befunde

Die poplitealen und inguinalen Lymphknoten der Empfänger-tiere sind grauweiß. Nur bei einem Tier der 3. Gruppe findet man eine stärkere subkapsuläre Blutung der inguinalen und eine punktförmige subkapsuläre Blutung der poplitealen Lymphknoten.

Das durchschnittliche Gewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten beider Seiten beträgt bei den Tieren der 1. Gruppe das 1,2fache, bei den Tieren der 2. Gruppe das 1,4fache und bei den Tieren der 3. Gruppe das 2,1fache des entsprechenden Gewichtes von Kontrolltieren (Tab. 19).

Tiergruppe	Lymphknotengewicht (mg)	
Kontrolltiere	$\bar{X} = 56,40$	$s = \pm 9,26$
1	$\bar{X} = 66,70$	$s = \pm 9,93$
2	$\bar{X} = 76,80$	$s = \pm 16,68$
3	$\bar{X} = 119,40$	$s = \pm 20,60$

Tab. 19: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte verschiedener Tiergruppen nach intra-plantarer Übertragung von sensibilisierten Lymphozyten.

4,322 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 20)

Während sich bei den Versuchstieren der 1. Gruppe keine Veränderungen in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten nachweisen lassen, erkennt man in den gleichen Lymphknoten der 2. Gruppe eine angedeutete Randfollikelbildung. In den gering erweiterten Sinus findet man wenige Histiozyten.

Nur bei einem der 5 Versuchstiere dieser Gruppe treten zwischen den Sinus Plasmazellen auf. Die gleichen Lymphknoten weisen bei den Tieren der 3. Gruppe deutlich ausgeprägte Randfollikel mit Keimzentren auf sowie ein Wall dicht gepackter Lymphozyten, der sich um die Keimzentren lagert. In den Keimzentren lassen sich Kerntrümmernphagozytosen nachweisen. Die Sinus dieser Lymphknoten sind gering erweitert. In den Sinus findet man reichlich Histiozyten. Bei 2 Tieren dieser Gruppe erkennt man zusätzlich zwischen den Sinus Plasmazellen.

Tiergruppe	I	II	III	IV	V
Kontrolltiere	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-
2	(+)	(+)	(+)	(+)	-
3	+	(+)	+	+	+

Tab. 20: Veränderung in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten verschiedener Tiergruppen. I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterung der Sinus. III = Sinushistiozytose. IV = Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Kernphagozytose in den Keimzentren der Follikel. - = Fehlen. (+) = geringe Ausprägung. + = mittelgradige Ausprägung der unter I bis V beschriebenen Veränderungen.

4.33 Milz

4.331 Makroskopische Befunde

Das aus einer Gruppe von Kontrolltieren ermittelte durchschnittliche Milzgewicht beträgt 615,91 mg mit einer Streuung von $\pm$ 30,59 mg. Bei der 1. und der 2. Gruppe der Versuchstiere findet man eine geringe Steigerung des Milzgewichtes auf das

1,1fache, bzw. das 1,2 fache dieses Kontrollgewichtes. Bei der 3. Gruppe dagegen liegt eine Zunahme des Milzgewichtes auf das 1,9fache des Kontrollgewichtes vor (Tab. 21).

Tiergruppe	Milzgewicht (mg)	
Kontrolltiere	$\bar{X} = 615,91$	$s = \pm 30,59$
1	$\bar{X} = 704,10$	$s = \pm 111,20$
2	$\bar{X} = 727,20$	$s = \pm 143,10$
3	$\bar{X} = 1163,70$	$s = \pm 362,30$

Tab. 21: Mittelwerte und Streuungen der Milzgewichte verschiedener Tiergruppen nach intraplanter Übertragung von sensibilisierten Lymphozyten.

4.332 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 22)

Die Milzen der Versuchstiere der 1. Gruppe zeigen keine Veränderungen. Lediglich bei einem Tier dieser Gruppe findet man vereinzelt kleine Blutbildungsherde in der roten Pulpa.

Bei den Tieren der 2. und der 3. Gruppe findet man breite großzelluläre Randsäume sowie vergrößerte Follikel. Bei 2 Tieren der 3. Gruppe läßt sich eine starke Ansammlung von Blutbildungsherden in der roten Pulpa nachweisen.

Tiergruppe	I	II	III
Kontrolltiere	-	-	-
1	-	-	(+)
2	+	+	-
3	+	+	++

Tab. 22: Veränderungen in den Milzen der verschiedenen Tiergruppen. I = Breite großzelluläre Randsäume. II = Vergrößerung der Follikel. III = Blutbildungsherde in der roten Pulpa. - = Fehlen. (+) geringe Ausprägung. + = mittelgradige Ausprägung. ++ = starke Ausprägung der unter I bis III beschriebenen Veränderungen.

4,34 Veränderungen in anderen Organen

4,341 Lungen (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 23)

Bei keinem der Versuchstiere läßt sich eine Vergrößerung der peripheren peribronchialen Lymphknoten nachweisen. Epitheloidzellige Granulome treten ebenfalls nicht auf. In den Lungen der Tiere der 1. Gruppe erkennt man mehrere periphere Rundzellinfiltrate, die aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. Sie treten in den Lungen der Tiere der 2. Gruppe wesentlich häufiger auf, während sie bei den Versuchstieren der 3. Gruppe nur noch ganz vereinzelt vorkommen.

Tiergruppe	I	II	III
Kontrolltiere	-	-	-
1	-	+	-
2	-	++	-
3	-	(+)	-

Tab. 23: Lungenveränderungen bei Tiergruppe 1 - 3. I = Vergrößerung der peripheren peribronchialen Lymphknoten. II = Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen in den peripheren Lungenbereichen. III = Epitheloidzellige Granulome. - = Fehlen, (+) = geringe Ausprägung, + = mittelgradige Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis III beschriebenen Veränderungen.

4,342 Leber, Thymus

Leber und Thymus lassen keine Veränderungen erkennen. Das durchschnittliche Thymusgewicht der 3 Tiergruppen unterscheidet sich nicht von dem entsprechenden Wert von Kontrolltieren (Tab. 24).

Tiergruppe	Thymusgewicht (mg)
1	$\bar{X} = 493,60 \quad s = \pm 56,13$
2	$\bar{X} = 433,80 \quad s = \pm 43,40$
3	$\bar{X} = 494,20 \quad s = \pm 82,84$

Tab. 24: Mittelwerte und Streuungen der Thymusgewichte der Versuchstiergruppen 1 - 3.

4,343 Körpergewicht

Die durchschnittliche Gewichtszunahme pro Tag der Tiere der 1. Gruppe beträgt 2,428 g, die der 2. Gruppe 2,671 g und die der 3. Gruppe 2,600 g.

Während die Tiere der Versuchsgruppen, denen komplettes FREUNDsches Adjuvans injiziert wurde, eine deutlich geringere Zunahme ihres Körpergewichtes gegenüber den Kontrolltieren aufweisen, entspricht die tägliche Gewichtszunahme der Tiere unter diesen Versuchsbedingungen im Verlauf dieses Versuches am ehesten der Gewichtszunahme der Kontrolltiere.

4,4 Intraplantare Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans nach Vorbehandlung mit Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204)

4,41 Gelenke

4,411 Primärreaktionen

4,4111 Makroskopische Befunde

Eine Woche nach Injektion ist die injizierte Hinterpfote blaurötlich verfärbt und geschwollen. Diese Schwellung erstreckt sich vom Tarsalgelenk über die Mittelpfote bis zu den Phalangen. Sie nimmt in den folgenden Wochen nicht mehr so stark zu wie in der 1. Woche. Durch sie kommt es zur völligen Bewegungseinschränkung des Tarsalgelenkes. Da die injizierte Pfote ständig in Spitzfußstellung gehalten wird, berührt auch beim Laufen die Dorsalseite der geschwollenen Phalangen den Boden. In der 3. und 4. Woche nach Injektion tritt eine zunehmende Atrophie des M. tibialis anterior auf der Seite der injizierten Pfote auf. In der 2. Woche, noch ausgeprägter in der 3. und 4. Woche nach Injektion, kommt es an der injizierten Pfote zur Ausbildung von Ulzerationen, die zunehmend größer werden und zu scharf begrenzten Hautdefekten mit Krustenbildung führen.

4,4112 Mikroskopische Befunde

Eine Woche nach Injektion findet man in der injizierten Pfote im subkutanen Binde- und Fettgewebe sowie zwischen den Muskelfasern bis an das Periost und an die Gelenkkapseln heranreichend eine massive Ansammlung von Granulozyten, Histiozyten und Fibroblasten. In diese entzündlichen Infiltrate sind Fettvakuolen eingelagert, die von einem Wall dicht gepackter Granulozyten, an den sich nach außen vermehrt Histiozyten und Fibroblasten anschließen, umgeben werden. Im angrenzenden lockeren Bindegewebe tritt eine Proliferation von Fibroblasten auf. Gleichzeitig findet man eine starke entzündliche Infiltration in den Gelenkkapseln, die bis in die Zotten der Membrana synovialis reicht. Nur bei einem der Versuchstiere läßt sich schon eine Woche nach Injektion die Ausbildung eines Markpannus nachweisen. Hierbei proliferiert von der Membrana synovialis aus an der Stelle, wo die Blutgefäße in die knöcherne Epiphyse eintreten, ein entzündliches Bindegewebe subkartilaginär in den Knochen hinein. Hierbei werden die Knochenbälkchen der Spongiosa zerstört. Der darüber gelegene Gelenkknorpel ist noch erhalten. Im Bereich des angrenzenden Periostes kommt es zur periostalen Knochenneubildung.

2 Wochen nach Injektion sind die entzündlichen Infiltrate in der injizierten Pfote noch stärker ausgebreitet. Neben den Granulozyten, Histiozyten und Fibroblasten findet man nun auch vermehrt Lymphozyten. In einigen Gelenken kommt es neben der Ausbildung eines Markpannus auch zur Ausbildung eines Kapselpannus. Ebenfalls von der Membrana synovialis ausgehend wächst zungenartig ein zellreiches Bindegewebe über den Gelenkknorpel, der hierdurch zerstört wird. 3 Wochen nach Injektion verringert sich die Zahl der Granulozyten wieder. Jetzt treten vermehrt Histiozyten, Lymphozyten und Fibroblasten auf. Vereinzelt kommt es zur Ausbildung epitheloidzelliger Granulome und zum Auftreten von LANGHANSschen Riesenzellen.

An den Gelenken selbst haben Markpannus und Kapselpannus den Gelenkknorpel sowie den subkartilaginären Knochen fast völlig zerstört. Oft findet man anstelle des Gelenkspaltes eine fibröse Ankylose. In der Nähe des zerstörten Knorpels treten herdförmig angeordnete Knorpelregenerate auf. Bei einigen Tieren kommt es zu einer massiven periostalen Knochenneubildung. Innerhalb dieses Knochens lassen sich vereinzelte Reste des ursprünglich vorhandenen Fußknochens nachweisen.

4 Wochen nach Injektion ist die entzündliche Komponente der zelligen Infiltration noch weiter zurückgebildet. Jetzt findet man um die Fettvakuolen nur noch einen dünnen Saum von Granulozyten. Daran schließen sich nach außen vor allem Fibroblasten und epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen an.

Die Veränderungen an den Gelenken und Knochen entsprechen mit einem noch stärkeren Ausprägungsgrad denen, die man 3 Wochen nach Injektion findet.

4,412 Sekundärreaktionen

4,4121 Makroskopische Befunde

Eine Woche nach Injektion sind die nicht injizierten Pfoten normal gestaltet. Sie sind frei beweglich und zeigen keine entzündlichen Reaktionen. 12 Tage nach Injektion tritt im Bereich aller größeren und kleineren Gelenke der nicht injizierten Pfoten eine beginnende Rötung und Schwellung auf. Diese Veränderungen nehmen in den folgenden Tagen erheblich an Stärke zu, sie erreichen allerdings nicht den Ausprägungsgrad, den sie an der injizierten Pfote besitzen (Abb. 41a-b und Abb. 42). Mit fortschreitender Schwellung und Rötung kommt es zu einer zunehmenden Bewegungseinschränkung vor allem der Gelenke der Hinterpfoten, die ebenfalls nicht so stark ausgeprägt ist wie die der injizierten Pfote. Ulzerationen treten an den nicht injizierten Pfoten nicht auf.

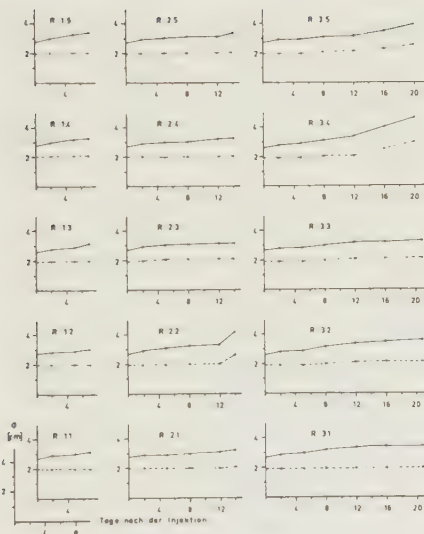


Abb. 41a:

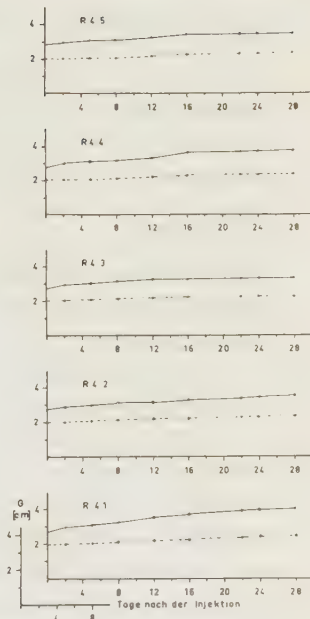


Abb. 41b:

Gelenkdurchmesser der Karpal- und Tarsalgelenke der Versuchstiere $R_{1,1}$ bis $R_{4,5}$ in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSCHEM Adjuvans und nach Vorbehandlung mit P 204. G = Gelenkdurchmesser in cm. Abstand zwischen Abszisse und gestrichelter Kurve = Summe der Gelenkdurchmesser der drei nicht injizierten Pfoten eines Versuchstieres. Abstand zwischen gestrichelter und durchgezogener Kurve = Gelenkdurchmesser der injizierten Pfote desselben Tieres.

4,4122 Mikroskopische Befunde

Eine Woche nach Injektion lassen sich weder in der Synovialmembran noch im periartikulären Gewebe der nicht injizierten Hinterpfote entzündliche Infiltrate nachweisen. 2 Wochen nach Injektion findet man in der Gelenkkapsel aller Gelenke dieser Pfote bis in die Zotten der Membrana synovialis hineinreichende entzündliche Infiltrate, die vor allem aus Histiozyten, Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. Granulozyten lassen sich nur vereinzelt nachweisen. Außer diesen zellulären Infiltraten findet man in der Gelenkkapsel fibrinoide Nekrosen. Der Gelenkknorpel zeigt keine Veränderungen. 3 Wochen nach Injektion sind die entzündlichen Infiltrate in der Membrana synovialis noch stärker ausgeprägt. Von hier breiten sie sich entlang der Sehnenscheiden derjenigen Sehnen, die in der Nähe der Gelenke inserieren, aus. Weiterhin findet man in vielen Gelenken die Ausbildung eines Kapselpannus mit Zerstörung des angrenzenden Gelenkknorpels und geringer periostaler Knochenneubildung.

4 Wochen nach Injektion haben sich die entzündlichen Infiltrate wieder etwas zurückgebildet. Im Vordergrund steht jetzt in zahlreichen Gelenken der nicht injizierten Hinterpfote die Ausbildung eines Kapselpannus mit ausgedehnter Zerstörung des Gelenkknorpels und ausgeprägter periostaler Knochenneubildung.

Bei keinen der nicht injizierten Hinterpfoten lassen sich jedoch Fettvakuolen oder epitheloidzellige Granulome nachweisen.

4,42 Regionäre Lymphknoten

4,421 Primärreaktionen

4,4211 Makroskopische Befunde

Eine Woche nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans nach Vorbehandlung mit Poly-2vinylpyridin-N-oxid (P204) findet man eine Steigerung des Durchschnitts-

gewichtes der poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfote auf das 9,4fache des Normalgewichtes. Die lumbalen Lymphknoten sind ebenfalls vergrößert. Einige dieser vergrößerten Lymphknoten besitzen subkapsuläre Blutungen. Ihre Kapseln sind meist verdickt. Oft sind die inguinalen Lymphknoten miteinander verwachsen.

2 Wochen nach Injektion ist das durchschnittliche Gewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten auf der Seite der injizierten Hinterpfote auf das 12,7fache ihres Normalgewichtes angestiegen. In den beiden folgenden Wochen tritt wieder eine geringe Abnahme ihres Gewichtes ein. Dieses beträgt 3 Wochen nach Injektion das 11,5fache, 4 Wochen nach der Injektion das 10,8fache des Normalgewichtes (Tab. 25). Bei einigen Tieren sind nur die poplitealen und lumbalen Lymphknoten vergrößert, während die inguinalen Lymphknoten normale Größe besitzen.

Wochen nach Injektion	Lymphknotengewicht (mg)	
Kontrolltiere	$\bar{X} = 28,20$	$s = \pm 4,63$
1	$\bar{X} = 265,16$	$s = \pm 43,12$
2	$\bar{X} = 357,54$	$s = \pm 26,93$
3	$\bar{X} = 323,10$	$s = \pm 54,08$
4	$\bar{X} = 304,20$	$s = \pm 15,05$

Tab. 25: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans und Vorbehandlung mit P 204.

4,4212 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 27)

Eine Woche nach Injektion sind die Lymphozyten der lumbalen Lymphknoten in Form von Follikeln angeordnet. Diese Anordnung der Lymphozyten, die sich in den entsprechenden Lymphknoten von Kontrolltieren nicht findet, ist in den folgenden Wochen nicht mehr nachweisbar.

Auch die erweiterten Sinus, die sich in der 1. Woche nach Injektion sowohl in den poplitealen und inguinalen als auch in den lumbalen Lymphknoten nachweisen lassen, sind in den folgenden Wochen wieder auf ihre normale Größe zurückgebildet. In diesen erweiterten Sinus finden sich vermehrt Histiozyten.

Neben diesen Veränderungen findet man in der 1. Woche nach Injektion zwischen den Sinus dicht gelagerte Plasmazellen, die allerdings in den folgenden Wochen nicht mehr so häufig vorkommen, jedoch bis zum Ende des Versuches nachgewiesen werden können.

Vor allem in der Kapsel, aber auch im Randsinus und bei den poplitealen und den inguinalen Lymphknoten zusätzlich in der Pulpa erkennt man eine Woche nach Injektion Fettvakuolen, die von einem Wall dicht gepackter Granulozyten sowie Fibroblasten umgeben werden. Diese Fettvakuolen sind in der 2. Woche nach Injektion besonders zahlreich, in den folgenden Wochen nehmen sie jedoch wieder ab. In den lumbalen Lymphknoten treten sie etwas später auf als in den poplitealen und inguinalen. Hier sind sie weiterhin nicht so stark ausgeprägt und bilden sich wieder etwas früher zurück als in diesen Lymphknoten.

2 Wochen nach Injektion lassen sich sowohl in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten als auch in den lumbalen Lymphknoten epitheloidzellige Granulome nachweisen, die in der 3. und 4. Woche nach Injektion außer Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen enthalten.

Diese Granulome sind in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten in allen Bezirken nachweisbar, in den lumbalen Lymphknoten bleiben sie dagegen auf den Randsinus und das angrenzende Pulpagewebe begrenzt. Hier findet man sie jedoch nur auf der Seite, in die die Vasa afferentia eintreten. Auf der Seite des Hilus lassen sich dagegen keine Granulome nachweisen.

Bei 7 der 20 Versuchstiere sind im paranodulären Fettgewebe die Vasa afferentia durch Zellproliferation verschlossen.

4,422 Sekundärreaktionen

4,4221 Makroskopische Befunde

Eine Woche nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans nach vorausgegangener Vorbehandlung mit Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204) findet man in den poplitealen und inguinalen Lymphknoten der nicht injizierten Seite keine Veränderungen. Das durchschnittliche Gewicht dieser Lymphknoten entspricht dem Normalgewicht.

Eine Woche später ist das Gewicht dieser Lymphknoten auf das 1,6fache, 2 Wochen später auf das 2,8fache des Normalgewichtes angestiegen. In der letzten Versuchswoche beträgt das Durchschnittsgewicht dieser Lymphknoten das 1,8fache des Normalgewichtes (Tab. 26).

Diese vergrößerten Lymphknoten sind grauweiß. Sie besitzen weder subkapsuläre Blutungen, noch sind ihre Kapseln verdickt. Die inguinalen Lymphknoten sind nur vereinzelt miteinander verwachsen (Abb. 43).

Wochen nach Injektion	Lymphknotengewicht (mg)	
Kontrolltiere	$\bar{X} = 28,20$	$s = \pm 4,63$
1	$\bar{X} = 28,94$	$s = \pm 2,74$
2	$\bar{X} = 45,26$	$s = \pm 36,05$
3	$\bar{X} = 79,36$	$s = \pm 42,43$
4	$\bar{X} = 50,50$	$s = \pm 34,37$

Tab. 26: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplanterer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans und nach Vorbehandlung mit P 204.



Abb. 42: Hinterpfote einer Ratte 21 Tage nach intraplan-
tarer Injektion von komplettem FREUNDschem Ad-
juvans und nach Vorbehandlung mit P 204.

Oben: Erheblich verdickte injizierte Hinter-
pfote mit Ulzerationen im Bereich eines
Grundgelenkes.

Mitte: Ebenfalls verdickte nicht injizierte Hinter-
pfote der gleichen Ratte.

Unten: Normale Hinterpfote eines Kontrolltieres.



Abb. 43: Regionäre Lymphknoten der in Abb. 42 abgebildeten Hinterpfoten.

Rechts oben: Inguinales Lymphknotenpaar auf der Seite der injizierten Hinterpfote.

Rechts unten: Poplitealer Lymphknoten derselben Seite.

Mitte: Gleiche Lymphknoten der nicht injizierten Seite.

Links: Gleiche Lymphknoten einer Kontrollratte.

4,4222 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 27)

Eine Woche nach Injektion findet man geringgradig erweiterte Sinus, in denen sich Histiozyten nachweisen lassen. Diese Veränderungen treten in den folgenden Wochen verstärkt auf.

In der 2. Woche, noch ausgeprägter in der 3. und 4. Woche nach Injektion erkennt man zwischen den Sinus dicht gelagerte Plasmazellen, die große Abschnitte der Pulpa einnehmen. In diese eingelagert findet man herdförmig angeordnete Lymphozyten. Epitheloidzellige Granulome lassen sich in der 2., 3. und 4. Woche nach Injektion nur vereinzelt nachweisen.

Lymphknoten-lokalisation	Wochen nach Injektion	I	II	III	IV	V	VI	VII
A	1	-	+	+	++	++	-	-
	2	-	-	-	+	++	++	-
	3	-	-	-	+	++	++	+
	4	-	-	-	+	(+)	++	+
B	1	+	+	+	++	+	-	-
	2	-	-	-	++	++	++	-
	3	-	-	-	+	+	++	+
	4	-	-	-	+	(+)	++	+
C	1	-	(+)	(+)	-	-	-	-
	2	-	+	+	(+)	-	(+)	-
	3	-	+	+	++	-	(+)	-
	4	-	+	+	++	-	(+)	-

Tab. 27: (s. Seite 94)

Tab. 27: Veränderungen in den Lymphknoten in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplanter Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans und nach Vorbehandlung mit P 204.

A = Popliteale und inguinale Lymphknoten der injizierten Seite. B = Lumbale Lymphknoten. C = Popliteale und inguinale Lymphknoten der nicht injizierten Seite. I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterung der Sinus. III = Sinushistiozytose. IV = Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Granulome aus Epitheloidzellen. VII = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen, (+) = geringe Ausprägung, + = mittelgradige Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis VII beschriebenen Veränderungen.

4,43 Milz

4,431 Makroskopische Befunde

Eine Woche nach Injektion findet man eine Zunahme des durchschnittlichen Milzgewichtes auf das 1,5fache des Normalgewichtes. Am Ende der 2. und der 3. Woche nach Injektion beträgt das durchschnittliche Milzgewicht das 1,8fache, am Ende der 4. Woche das 1,3fache des Normalgewichtes (Tab. 28).

Wochen nach Injektion	Milzgewicht (mg)
Kontrolltiere	$\bar{x} = 615,91 \quad s = \pm 30,59$
1	$\bar{x} = 944,16 \quad s = \pm 83,22$
2	$\bar{x} = 1116,10 \quad s = \pm 480,85$
3	$\bar{x} = 1126,20 \quad s = \pm 537,50$
4	$\bar{x} = 806,70 \quad s = \pm 85,58$

Tab. 28: Mittelwerte und Streuungen der Milzgewichte in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans und nach Vorbehandlung mit P 204.

Bei 3 der 20 Versuchstiere findet man in der Milz sowohl subkapsulär als auch in der Pulpa bis zu 3 mm im Durchmesser große graugelbe Herde, die scharf begrenzt sind und meist von einem hämorrhagischen Randsaum umgeben werden. Bei einem weiteren Versuchstier sieht man fleckförmige grauweiße unscharf begrenzte Verdickungen der Milzkapsel (Kapseldeckzellproliferation).

4,432 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 29)

Bei keinem der Versuchstiere kommt es nach Injektion zu einer eindeutigen Vergrößerung der Milzfollikel. Die Randsäume sind am Ende der 2. Versuchswoche stärker, in der übrigen Zeit nur geringgradig erweitert. Bei allen Versuchstieren findet man in der roten Pulpa Blutbildungsherde mit Megakaryozyten. Diese Blutbildungsherde sind herdförmig angeordnet. Den makroskopischen Veränderungen, die bei 3 Versuchstieren beschrieben wurden, liegen Infarkte zugrunde.

Wochen nach Injektion	I	II	III
Kontrolltiere	-	-	-
1	-	(+)	++
2	-	+	++
3	-	(+)	++
4	-	(+)	++

Tab. 29: Veränderungen in den Milzen in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplanterer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans und nach Vorbehandlung mit P 204. I = Follikelvergrößerung. II = Verbreiterung des Randsaumes. III = Auftreten von Blutbildungsherden in der roten Pulpa. - = Fehlen, (+) = geringe Ausprägung, + = mittelgradige Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis III beschriebenen Veränderungen.

4,44 Veränderungen in anderen Organen

4,441 Lungen (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 30)

Bei keinem der Versuchstiere findet man eine Vergrößerung der peribronchialen Lymphknoten. In den ersten beiden Wochen nach Injektion treten nur vereinzelt Rundzellinfiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen auf, die allerdings in der 3. und 4. Woche nach Injektion wesentlich häufiger vorkommen. In dieser Zeit lassen sich auch einige epitheloid-zellige Granulome nachweisen.

Wochen nach Injektion	I	II	III
Kontrolltiere	-	-	-
1	-	(+)	-
2	-	(+)	-
3	-	+	((+))
4	-	+	(+)

Tab. 30: Veränderungen in den Lungen in Abhängigkeit von der Zeit nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans und nach Vorbehandlung mit P 204.

I = Vergrößerung der peribronchialen Lymphknoten. II = Periphere Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen. III = Epitheloidzellige Granulome. - = Fehlen, ((+)) = sehr geringe Ausprägung, (+) = geringe Ausprägung, + = mittelgradige Ausprägung der unter I bis III beschriebenen Veränderungen.

4,442 Leber

In den ersten beiden Wochen nach Injektion findet man normal gestaltetes Lebergewebe, in dem sich keine Veränderungen nachweisen lassen. 3 Wochen nach Injektion treten vermehrt epitheloidzellige Granulome auf, die in ihren Randbezirken neben Epitheloidzellen auch Lymphozyten enthalten. Die unmittelbar angrenzenden Leberzellen sind atrophisch verändert.

4 Wochen nach Injektion lassen sich nur noch bei einem von fünf Versuchstieren ganz vereinzelt und wesentlich kleinere epitheloidzellige Granulome nachweisen.

Bei einem Versuchstier findet man im Lebergewebe selbst und subkapsulär herdförmig angeordnete, scharf gegen das umgebende Lebergewebe abgegrenzte Nekrosen, die von einem dünnen Wall dicht gelagerter Granulozyten begrenzt werden. Sie sind auch makroskopisch als gelbe bis zu 0,3 mm im Durchmesser große Punkte erkennbar.

4,443 Thymus

Eine Woche nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans nach Vorbehandlung mit Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204) entspricht das durchschnittliche Thymusgewicht dem Normalgewicht. In den folgenden Wochen tritt eine starke Verminderung des Thymusgewichtes auf (Tab. 31). Mikroskopisch lassen sich jedoch außer einer Verschmälerung des Markes keine Veränderungen nachweisen.

Wochen nach Injektion	Thymusgewicht (mg)
1	$\bar{X} = 436,84 \quad s = \pm 14,59$
2	$\bar{X} = 344,44 \quad s = \pm 94,71$
3	$\bar{X} = 260,60 \quad s = \pm 63,64$
4	$\bar{X} = 353,90 \quad s = \pm 28,72$

Tab. 31: Mittelwerte und Streuungen der Thymusgewichte in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion.

4,444 Verdauungstrakt

In der 2. und 3. Woche nach Injektion entleert sich aus dem Darm nicht mehr ein fester geformter sondern ein sehr weicher Kot. In diesem Kot lassen sich Würmer (Nematoden) nachweisen, die jedoch in der 4. Versuchswoche nicht mehr auftreten. In dieser Zeit wird der Kot wieder etwas fester.

4,445 Körpergewicht

Auch bei den Tieren dieses Versuches zeigt sich, daß die tägliche Gewichtsabnahme um so stärker ist, je ausgeprägter die Primärreaktionen an der injizierten Pfote und an den übrigen Organen sind. So findet man bei diesen Tieren eine tägliche Gewichtsabnahme von 0,14 g bis 1,64 g. Hierbei handelt es sich jedoch auch um die Tiere, die die ausgeprägtesten Sekundärreaktionen aufweisen.

4,5 Subkutane Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans

4,51 Gelenke

4,511 Makroskopische Befunde

Die Gelenke aller Versuchstiere dieses Versuches sind normal gestaltet und in ihrer Beweglichkeit nicht eingeschränkt. Sie sind nicht gerötet und weisen keine meßbare Dickenzunahme auf.

4,512 Mikroskopische Befunde

Weder im periartikulären Gewebe noch in den Synovialmembranen der untersuchten Pfortengelenke lassen sich entzündliche Infiltrate nachweisen.

4,513 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen

Die Membrana synovialis der Kniegelenke der injizierten Ratten besitzt einen einschichtigen geschlossenen Zellverband, der sich nicht von dem in Kapitel 4,113 beschriebenen Zellverband der Membrana synovialis der nicht injizierten Ratten unterscheidet.

98,6 % der Zellkerne besitzen, wie zytophotometrische Bestimmungen zeigen, einen diploiden DNS-Gehalt (G_1 -Phase). Lediglich 1,4 % verfügen über einen tetraploiden DNS-Gehalt (G_2 -Phase). Zellkerne, die sich in der DNS-Synthesephase

(S-Phase) befinden, lassen sich dagegen nicht nachweisen (Tab. 32 und Abb. 44a-e). Diese Werte entsprechen denen, die man bei Tieren findet, die keine Reaktion der entsprechenden Zellkerne auf die Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans besitzen (Tab. 3 I).

Tage nach Injektion	Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (%)	Zellkerne in der Synthese- phase (%)	Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt (%)
Kontrolltiere	100	0	0
2	100	0	0
4	100	0	0
6	98	0	0
8	96	0	0
10	100	0	0
12	100	0	0
14	98	0	2
16	98	0	2
18	100	0	0
20	97	0	3
22	96	0	4
24	99	0	1
26	100	0	0
28	97	0	3

Tab. 32: Prozentualer Anteil der Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt, der Zellkerne in der Synthesephase und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt in Abhängigkeit von der Zeit nach subkutaner Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

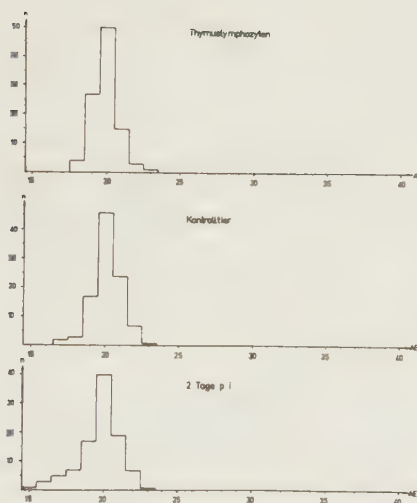


Abb. 44a: Anzahl (n) FEULGEN-gefärbter Zellkerne der Membrana synovialis in Beziehung zu ihrem zytophotometrisch bestimmten DNS-Gehalt (AE) und der Zeit nach subkutaner Injektion (p.i.) von komplettem FREUNDschem Adjuvans. In gleicher Weise bestimmte Werte von Thymuslymphozyten dienen als Bezugsgröße für einen diploiden DNS-Gehalt.

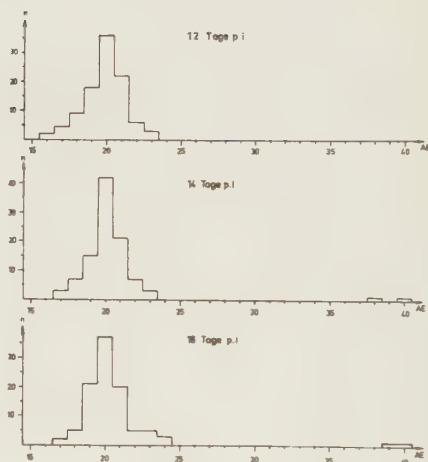
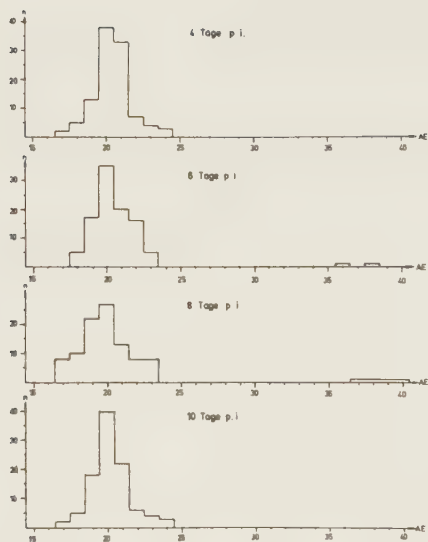


Abb. 44b-c: Siehe Abb. 44a

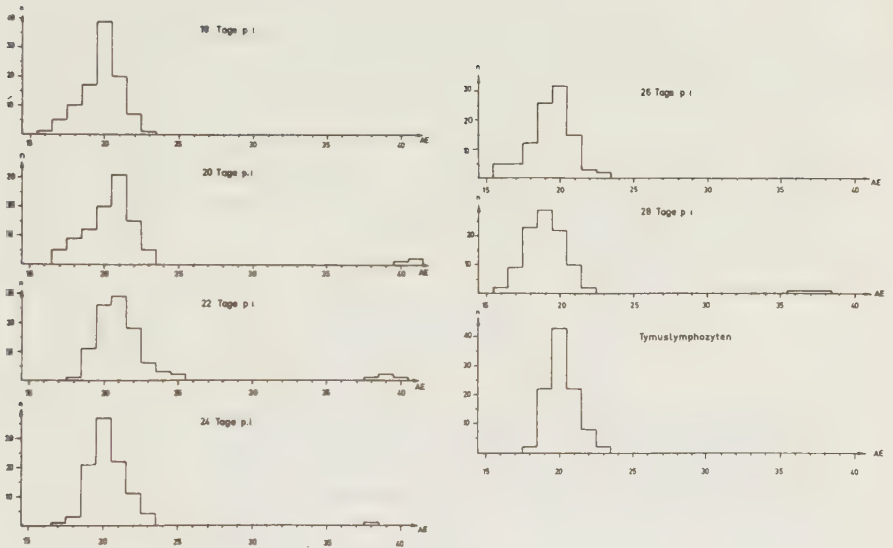


Abb. 44d-e: Siehe Abb. 44a

4,52 Regionäre Lymphknoten

4,521 Makroskopische Befunde

Die poplitealen und inguinalen Lymphknoten sind grauweiß und nicht vergrößert. Sie besitzen keine subkapsulären Blutungen. Die inguinalen Lymphknoten sind nicht miteinander verwachsen. Das durchschnittliche Gewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten einer Seite beträgt 28,9 mg mit einer Streuung von $\pm 3,78$ mg. Dieses Durchschnittsgewicht stimmt mit dem Wert überein, der aus den gleichen Lymphknoten von 50 Kontrolltieren ermittelt wurde (Tab. 33).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Lymphknotengewicht (mg)	$\bar{X} = 28,20$ $s = \pm 4,63$	$\bar{X} = 28,90$ $s = \pm 3,78$

Tab. 33: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe nach subkutaner Injektion von kompäctem FREUNDSchem Adjuvans.

4,522 Mikroskopische Befunde

Das histologische Bild der poplitealen und inguinalen Lymphknoten gleicht zu jeder Zeit nach der Injektion dem entsprechender Lymphknoten von Kontrolltieren. Weder sind die Randsinus zellig infiltriert noch sind die Lymphozyten in Form von Follikeln angeordnet. Die Sinus weisen keine Histiozyten auf. Auch eine Vermehrung von Plasmazellen zwischen den Sinus läßt sich nicht nachweisen.

4,53 Milz

4,531 Makroskopische Befunde

Nach subkutaner Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans lassen sich makroskopisch keine Veränderungen an der Milz feststellen. Das durchschnittliche Milzgewicht entspricht dem, welches aus einer Gruppe von Kontrolltieren ermittelt wurde (Abb. 29 und Tab. 34).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Milzgewicht (mg)	$\bar{X} = 615,91$ $s = \pm 30,57$	$\bar{X} = 623,40$ $s = \pm 36,86$

Tab. 34: Mittelwerte und Streuungen der Milzgewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe nach subkutaner Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans.

4,532 Mikroskopische Befunde

Histologisch lassen sich weder in der Kapsel der Milz noch im Milzgewebe selbst Veränderungen nachweisen. Die Follikel sind nicht vergrößert. In der roten Pulpa findet man nur ganz vereinzelt Blutbildungsherde mit nur wenigen Riesenzellen.

4,54 Veränderungen in anderen Organen

4,541 Lungen, Leber, Thymus

Lungen, Leber und Thymus zeigen keine Reaktion auf die subkutane Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. In keinem der drei Organe lassen sich Fettvakuolen mit Granulozyten und Fibroblasten nachweisen. Es treten weder Rundzell-

infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen noch Granulome aus Epitheloidzellen auf. Das durchschnittliche Thymusgewicht beträgt 426,45 mg mit einer Streuung von $\pm 52,34$ mg.

4,542 Körpergewicht

Bei den 14 Versuchstieren findet man eine tägliche Gewichtszunahme von 0,25 g bis 2,50 g. Diese Werte entsprechen denen von Kontrolltieren. Deshalb wird das Gewichtsverhalten dieser Ratten (Abb. 45) als Bezugsgröße bei der Beurteilung des Gewichtsverhaltens der Ratten der Versuche 4,1, 4,6 und 4,7 verwendet.

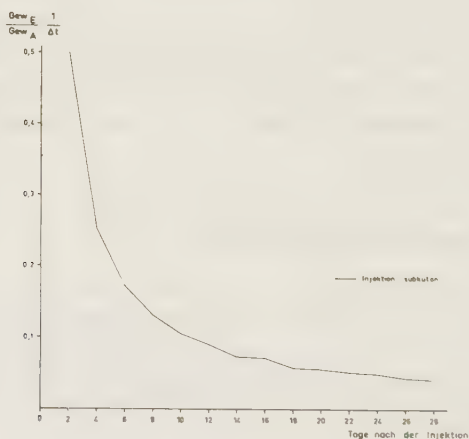


Abb. 45: Gewichtsverhalten in Abhängigkeit von der Zeit nach subkutaner Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. Weitere Erklärungen siehe Abb. 35.

4,6 Intraperitoneale Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans

4,61 Gelenke

4,611 Makroskopische Befunde

Die Gelenke der Versuchstiere sind normal gestaltet und völlig frei beweglich. Sie zeigen keine entzündliche Rötung. Bei keinem der Versuchstiere läßt sich eine meßbare Dickenzunahme der Pfotengelenke nachweisen.

4,612 Mikroskopische Befunde

Weder im periartikulären Gewebe noch in den Gelenkkapseln und in den Synovialmembranen der untersuchten Pfotengelenke lassen sich entzündliche Infiltrate nachweisen.

4,613 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen

Die Membrana synovialis der Kniegelenke der injizierten Ratten besitzt einen einschichtigen geschlossenen Zellverband, der keine Abweichungen von der in Kapitel 4,113 beschriebenen Membrana synovialis der nicht injizierten Ratte besitzt. Der zytophotometrisch bestimmte DNS-Gehalt der Zellkerne der Membrana synovialis beider Kniegelenke zeigt, daß 97,33 % dieser Zellkerne einen diploiden DNS-Gehalt besitzen (G_1 -Phase). 0,53 % befinden sich in der DNS-Synthesephase (S-Phase) und 2,14 % verfügen über einen tetraploiden DNS-Gehalt (G_2 -Phase) (Tab. 35 und Abb. 46a-e).

Diese Werte entsprechen denen, die man bei Versuchstieren findet, bei denen die entsprechenden Zellen keine Reaktion auf die Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans besitzen (Tab. 3.I).

Tage nach Injektion	Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (%)	Zellkerne in der Synthese- phase (%)	Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt (%)
Kontrolltiere	100	0	0
2	99	0	1
4	100	0	0
6	100	0	0
8	98	0	2
10	97	0	3
12	92	0	8
14	98	0	2
16	98	0	2
18	94	1	5
20	95	2	3
22	98	0	2
24	97	2	1
26	99	0	1
28	95	3	2

Tab. 35: Prozentualer Anteil der Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt, der Zellkerne in der DNS-Synthesephase und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt in Abhängigkeit von der Zeit nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

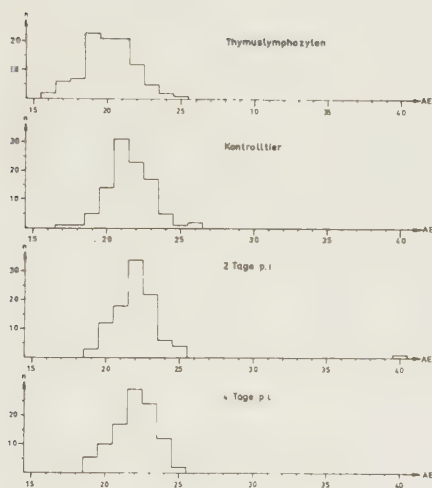


Abb. 46a: Anzahl (n) FEULGEN-gefärbter Zellkerne der Membrana synovialis in Beziehung zu ihrem zytophotometrisch bestimmten DNS-Gehalt (AE) und der Zeit nach intra-peritonealer Injektion (p.i.) von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

In gleicher Weise bestimmte Werte von Thymuslymphozyten dienen als Bezugsgröße für einen diploiden DNS-Gehalt.

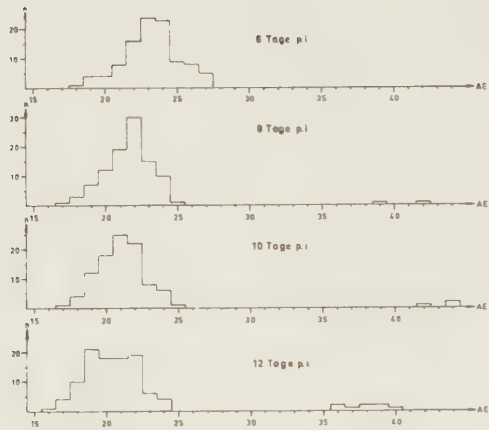


Abb. 46b: Siehe Abb. 46a

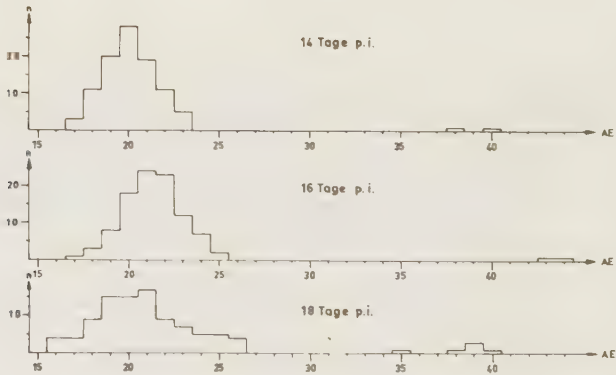


Abb. 46c: Siehe Abb. 46a

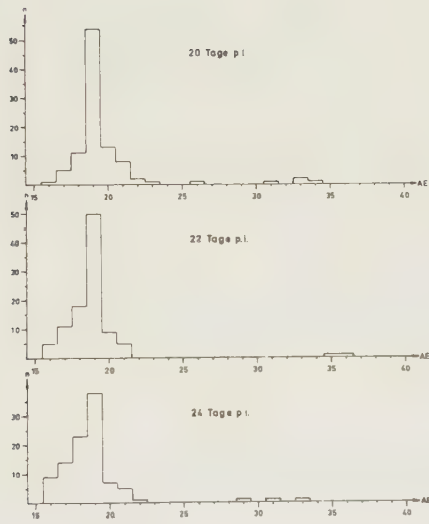


Abb. 46d: Siehe Abb. 46a

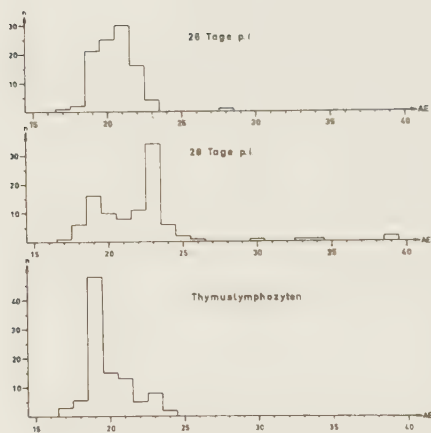


Abb. 46e: siehe Abb. 46a

4,62 Reglinäre Lymphknoten

4,621 Makroskopische Befunde

Die poplitealen und inguinalen Lymphknoten sind grauweiß und zeigen keine subkapsulären Blutungen. Sie sind nicht vergrößert. Die inguinalen Lymphknoten sind nicht miteinander verwachsen. Das durchschnittliche Gewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten einer Seite beträgt 31,70 mg mit einer Streuung von $\pm$ 3,39 mg. Dieses Durchschnittsgewicht gleicht dem entsprechenden Wert, der aus den gleichen Lymphknoten von 50 Kontrolltieren ermittelt wurde (Tab. 36).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Lymphknotengewicht (mg)	$\bar{X} = 28,20$ $s = \pm 4,63$	$\bar{X} = 31,70$ $s = \pm 3,39$

Tab. 36: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe nach intra-peritonealer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans.

4,622 Mikroskopische Befunde

Das histologische Bild der poplitealen und inguinalen Lymphknoten weicht zu keiner Zeit des Versuches von dem entsprechenden Lymphknoten von Kontrolltieren ab. Die Randsäume sind nicht zellig infiltriert. Die Lymphozyten sind weder in Follikeln angeordnet noch sind sie durch Plasmazellansammlungen verdrängt. In den Sinus läßt sich keine Vermehrung von Histiozyten nachweisen.

4,63 Milz

4,631 Makroskopische Befunde

Das von einer Gruppe von Kontrolltieren bestimmte durchschnittliche Milzgewicht beträgt 615,91 mg mit einer Streuung von $\pm$ 30,57 mg. Nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans steigt das Milzgewicht kontinuierlich an und erreicht nach 18 Tagen Werte, die das 3fache des Normalgewichtes übersteigen (Abb. 29).

2 Tage nach Injektion erkennt man vor allem in Hilusnähe und am oberen Milzpol ganz vereinzelt unscharf begrenzte Bezirke, in denen die Kapsel grauweiß getrübt ist. Die Kapselveränderungen nehmen in den folgenden Tagen an Stärke zu. Sie bleiben dann, allerdings in geringerer Ausprägung, bis zum Ende des Versuches erhalten.

14 Tage nach Injektion treten an der Milzkapsel zusätzlich derbe grau-weiß unscharf begrenzte Granulome auf, die bis zu 0,5 mm im Durchmesser groß sind und in den folgenden Tagen zunehmend häufiger vorkommen. Sie werden gleichzeitig größer, wobei sie einen Durchmesser von etwa 2 mm erreichen.

4,632 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 37)

2 Tage nach Injektion findet man in der Milzkapsel Fettvakuolen, die von Granulozyten und Fibroblasten umgeben sind. In den folgenden Tagen treten auch in der roten Pulpa des unmittelbar angrenzenden Milzgewebes Granulozyten auf.

16 Tage nach Injektion erkennt man in der Milzkapsel epitheloidzellige Granulome, die 2 Tage später außer Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen aufweisen. Im Milzgewebe selbst findet man 6 Tage nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans eine Vergrößerung der Follikel, die in geringerem Ausmaß bis zum Ende des Versuches nachweisbar ist. Die vergrößerten Follikel enthalten im

Zentrum kleine Lymphozyten. Darum lagert sich ein Wall großer Lymphozyten und Plasmazellen. Oft werden diese beiden Follikelbezirke von einer dünnen konzentrisch angeordneten Schicht kollagenen Bindegewebes gegeneinander abgegrenzt. Gleichzeitig mit der Vergrößerung der Follikel treten in der roten Pulpa Blutbildungsherde mit Riesenzellen (Megakaryozyten) auf.

Tage nach Injektion	Milzkapsel			Milzgewebe	
	I	II	III	I	II
Kontrolltiere	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-
4	++	-	-	-	+
6	++	-	-	++	++
8	++	-	-	++	++
10	+	-	-	++	++
12	++	-	-	+	+
14	+	-	-	+	+
16	+	++	-	+	++
18	++	++	+	+	++
20	+	+	++	+	++
22	+	++	++	++	++
24	+	+	+	+	++
26	+	++	+	+	++
28	+	+	+	+	+

Tab. 37: Veränderungen in der Milzkapsel und im Milzgewebe in Abhängigkeit von der Zeit nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. I = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. II = Granulome aus Epitheloidzellen. III = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. Milzgewebe: I = Follikelvergrößerung. II = Blutbildungs-herde in der roten Pulpa. - = Fehlen, + = geringe Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis III beschriebenen Veränderungen.

4,64 Veränderungen in anderen Organen

4,641 Bauchhöhle

2 Tage nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans finden sich geringe Mengen eines klaren bernsteinfarbenen Aszites, der sehr schnell geliert und in den folgenden Tagen an Menge zunimmt. Am 20. Tag nach Injektion sowie an den folgenden Tagen verringert sich die Aszites-menge wieder. Am 26. und 28. Tag nach Injektion läßt sich kein Aszites mehr nachweisen. 8 Tage nach Injektion finden sich geringe Verwachsungen im Bereich des linken Oberbauches zwischen dem oberen Milzpol, dem Magen und dem linken Seitenlappen der Leber. Am Rande des Mittellappens der Leber erkennt man ein 2 mm im Durchmesser großes derbes grauweißes Granulom.

10 Tage nach Injektion treten zusätzlich im rechten Oberbauch zwischen dem perirenalen Fettgewebe, dem rechten Seitenlappen der Leber und dem anliegenden Zwerchfell Verwachsungen auf. In den folgenden Tagen entwickelt sich im Bereich dieser Verwachsungen ein sehr derbes grauweißes Gewebe, das flächenhaft mit dem Peritonealüberzug der Oberbauchorgane verwachsen ist. Dieses derbe Gewebe findet man weiterhin an Stelle des Fettgewebes im Bereich der oberen Nierenpole und der Nebennieren.

Am Leberrand aller Leberlappen treten gleichzeitig bis zu 3 mm im Durchmesser große Granulome auf, die perlschnurartig aufgereiht sind. Diese Granulome finden sich auch im Mesenterium und im Mesocolon sowie an der Oberfläche der Beckenorgane. Besonders zahlreich kommen sie im Bereich des Pankreas vor, wo sie 16 Tage nach Injektion nicht mehr gegeneinander abgrenzbar sind. Dadurch kommt es zur Ausbildung einer bis zu 1,3 cm im Durchmesser dicken Walze eines sehr derben grauweißen Gewebes, das sich von der C-Schlinge des Duodenums bis zum Milzhilus erstreckt und hier mit der Milzkapsel verwachsen ist (Abb. 47a-b).

Stellenweise ist das Pankreas von diesem Gewebe vollständig umwachsen. Histologisch besteht es aus Fettvakuolen, die von dicht gelagerten Granulozyten und Fibroblasten umgeben sind. 6 Tage nach Injektion erkennt man zusätzlich epitheloidzellige Granulome, die etwa 20 Tage nach Injektion außer Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen enthalten.



Abb. 47a:



Abb. 47b:

Übersichtsaufnahme des Abdomens 28 Tage nach intraperitonealer Injektion des komplettem FREUNDschem Adjuvans. Mittellappen sowie der rechte und linke Seitenlappen der Leber sind hochgeschlagen, um die Betrachtung der darunter gelegenen Oberbauchorgane zu ermöglichen (am oberen Bildrand). Von der C-Schlinge des Duodenums bis zum Milzhilus erstreckt sich, dem Pankreas aufgelagert, ein derbes Granulationsgewebe (Bildmitte), das mit dem hinteren Anteil des Leberunterlappens und dem Milzhilus (Abb. 47b) fest verwachsen ist. Magen und vorderer Anteil des Leberunterlappens sind durch das gleiche Granulationsgewebe miteinander verwachsen (Abb. 47a Bildmitte). Beide sind (in Abb. 47b) gemeinsam mit einer Dünndarmschlinge nach rechts auf die aufgeschlagene rechte Bauchwand verlagert (linke Bildhälfte). Hierdurch werden der derbe Granulationsgewebsstrang im Bereich

des Pankreas, die Milz und der hintere Anteil des Leberunterlappens sichtbar (Bildmitte). Im rechten unteren Bildquadranten erkennt man den Fettzipfel des linken Hodens, der über 2 Darmschlingen hinzieht und mit dem Granulationsgewebsstrang im Bereich des Pankreas verwachsen ist. Über diese Gewebsbrücke läuft ein Gefäß, das das Granulationsgewebe vaskularisiert. Man erkennt weiterhin kleinere Granulome, die im gesamten Abdomen dem Peritoneum aufgelagert sind.

4,642 Leber (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 38)

2 Tage nach Injektion treten in der Leberkapsel Fettvakuolen auf, die von einem Wall dicht gelagerter Granulozyten umgeben sind, an die sich nach außen mehr locker gelagerte Granulozyten und Fibroblasten anschließen. Diese Erscheinung nimmt in den folgenden Tagen an Intensität zu, bildet sich jedoch nach dem 22. Versuchstag wieder etwas zurück.

6 Tage nach Injektion finden sich in der Kapsel zusätzlich epitheloidzellige Granulome, die vom 20. bis zum 24. Tag nach Injektion neben Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen enthalten. Während die Fettvakuolen und die sie umgebenden Granulozyten und Fibroblasten scharf gegen das angrenzende Lebergewebe abgegrenzt sind, ragen die epitheloidzelligen Granulome mit fingerartigen Ausläufern in die Lebersinusoide hinein. Dadurch sind die benachbarten Leberzellen atrophiert. Im Lebergewebe selbst findet man vom 6. bis zum 10. Tag nach der Injektion Fettvakuolen, die ebenfalls von Granulozyten und Fibroblasten umgeben sind. Gleichzeitig erkennt man vom 6. bis zum 8. Tag sowie am 16. Tag nach Injektion epitheloidzellige Granulome, die in ihren Randbezirken vereinzelt Lymphozyten enthalten. Sie werden umgeben von einer Schicht atrophischer Leberzellen.

6 Tage nach Injektion sowie an den folgenden Tagen lassen sich bis zum Ende des Versuches in den erweiterten Sinusoiden herdförmig angeordnete Lymphozyten- und Plasmazellansammlungen

nachweisen, die jedoch nach dem 20. Versuchstag kleiner werden.

Tage nach Injektion	Leberkapsel			Lebergewebe			
	I	II	III	I	II	III	IV
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-	-
2	++	-	-	-	-	-	-
4	++	-	-	-	-	-	-
6	++	++	-	++	++	-	++
8	++	++	-	++	++	-	++
10	++	++	-	+	-	-	++
12	++	++	-	-	-	-	+
14	++	++	-	-	-	-	+
16	++	++	-	-	++	-	++
18	++	++	-	-	-	-	++
20	++	++	+	-	+	-	+
22	+	++	+	-	-	-	+
24	+	+	+	-	-	-	-
26	-	+	-	-	-	-	+
28	-	+	-	-	-	-	+

Tab. 38: Veränderungen in der Leberkapsel und im Lebergewebe in Abhängigkeit von der Zeit nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

I = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. II = Granulome aus Epitheloidzellen. III = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. IV = Ansammlung von Lymphozyten und Plasmazellen in den Sinusoiden. - = Fehlen, + = geringe Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis IV beschriebenen Veränderungen.

4,643 Mesenteriale Lymphknoten (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 39)

Die mesenterialen Lymphknoten der Kontrolltiere haben einen Durchmesser von etwa 0,2 cm. Nach der Injektion von kompletten FREUNDschem Adjuvans in die Bauchhöhle erreichen sie einen mittleren Durchmesser von etwa 0,6 cm. Einzelne para-aortale Lymphknoten werden sogar bis zu 1,5 x 0,5 x 0,3 cm groß. 2 Tage nach Injektion erkennt man in der Rinde der mesenterialen Lymphknoten eine Anordnung der Lymphozyten in Form von Follikeln. Diese Erscheinung ist in den folgenden Tagen noch stärker ausgeprägt.

4 Tage nach Injektion sowie an den folgenden Tagen bis zum Ende des Versuches sind die Sinus erweitert und enthalten vermehrt locker gelagerte Histiozyten. Zwischen den Sinus treten massenhaft Plasmazellen auf, die ebenso wie die Histiozyten in den Sinus am 8. Tag nach Injektion besonders zahlreich vorkommen und in dieser Menge mit kleinen Schwankungen bis zum Ende des Versuches nachweisbar bleiben. Neben diesen Veränderungen findet man in der Kapsel der mesenterialen Lymphknoten an der Seite, an der die Vasa afferentia eintreten, Fettvakuolen, die in den folgenden Tagen auch im Randsinus nachweisbar sind und nach dem 16. Versuchstag auch in der Pulpa. Diese Fettvakuolen sind von Granulozyten und Fibroblasten umgeben. Ihnen benachbart findet man am 16. Tag nach Injektion im Randsinus epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen. Diese Granulome nehmen in den folgenden Tagen erheblich an Größe zu und wachsen breitflächig vom Randsinus bis weit in die Pulpa hinein vor.

Tage nach Injektion	I	II	III	IV	V	VI
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	-
4	+	+	-	-	+	-
6	+	+	+	+	+	-
8	+	-	+	+	+	-
10	+	+	+	+	+	-
12	+	+	+	+	+	-
14	+	+	+	+	+	-
16	+	+	+	+	+	+
18	+	-	+	+	+	+
20	+	-	+	+	+	+
22	+	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	-	+
26	+	+	+	+	-	+
28	+	+	+	+	-	-

Tab. 39: Veränderungen in den mesenterialen Lymphknoten in Abhängigkeit von der Zeit nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. I = Formation von Follikeln in der Rinde. II = Erweiterung der Sinus. III = Sinushistiozytose. IV = Auftreten von Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. - = Fehlen, + = Vorhandensein der unter I bis VI beschriebenen Veränderungen.

4,644 Lungen (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 40)

8 Tage nach Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans in die Bauchhöhle erkennt man auf der Lungenoberfläche bis zu 1 mm im Durchmesser große grauweiße knötchenartige Verdickungen der Pleura, bei denen es sich histologisch um Pleuradeckzellproliferationen handelt.

Im Lungengewebe selbst findet man 2 Tage nach Injektion eine Vergrößerung und Vermehrung der peribronchial gelegenen Lymphknoten, die bis zum 12. Tag nach Injektion nachweisbar bleiben.

8 Tage nach Injektion treten zahlreiche periphere peribronchiale Rundzellinfiltrate auf, die aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. Nach dem 16. Versuchstag werden sie wieder seltener und sind nach dem 22. Tag nach Injektion nur noch in Spuren nachweisbar.

8 Tage nach Injektion treten außer den Rundzellinfiltraten auch epitheloidzellige Granulome auf. Diese enthalten keine Fettvakuolen. Liegen sie subpleural, so weist die angrenzende Pleura häufig die oben beschriebenen Deckzellproliferationen auf. Die epitheloidzelligen Granulome sind am 8. und 10. Tag nach Injektion besonders stark ausgeprägt.

Danach werden sie wieder kleiner und kommen seltener vor.

4,645 Thymus

Am Thymus lassen sich nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans makroskopisch keine Veränderungen nachweisen. Das der Norm entsprechende durchschnittliche Thymusgewicht beträgt 485,3 mg mit einer Streuung von $\pm 80,39$ mg.

Mikroskopisch erkennt man einen läppchenartigen Aufbau. Zwischen den Läppchen befinden sich Bindegewebssepten. Sowohl in der Rinde als auch im Mark lassen sich HASSALLsche Körperchen nachweisen.

Tage nach Injektion	I	II	III
Kontrolltiere	-	-	-
2	+	-	-
4	++	-	-
6	++	-	-
8	+	++	++
10	++	++	++
12	++	++	+
14	-	++	-
16	-	+	+
18	-	+	+
20	-	(+)	-
22	-	(+)	-
24	-	(+)	+
26	-	(+)	+
28	-	(+)	+

Tab. 40: Veränderungen in den Lungen in Abhängigkeit von der Zeit nach intraperitonealer Injektion. von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

I = Vergrößerung der peribronchialen Lymphknoten. II = Periphere peribronchiale Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen. III = Granulome aus Epitheloidzellen. - = Fehlen, (+) = sehr geringe Ausprägung, + = geringe Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis III beschriebenen Veränderungen.

4,646 Körpergewicht

Bei 13 der 14 Versuchstiere findet man eine tägliche Gewichtszunahme von 0,30 bis 2,46 g. Diese Gewichtszunahme entspricht der von gleich alten Kontrolltieren. Bei einem der Versuchstiere liegt eine tägliche Gewichtsabnahme von durchschnittlich 0,625 g vor (Abb. 48). Dieses Tier gehört zu der Gruppe der Tiere mit den stärksten Veränderungen in den untersuchten Organen.

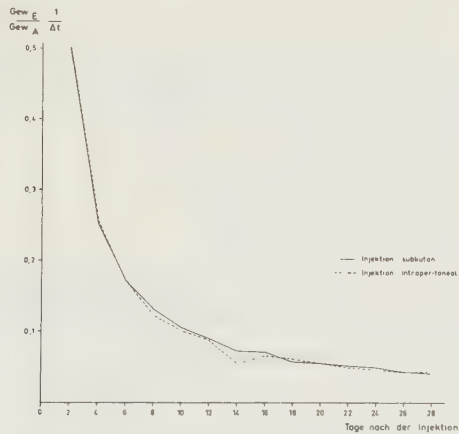


Abb. 48: Verhalten des Körpergewichtes in Abhängigkeit von der Zeit nach intraperitonealer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. Weitere Erklärungen siehe Abb. 35.

4,7 Intraperitoneale Injektion von inkomplettem FREUNDSchem Adjuvans

4,71 Gelenke

4,711 Makroskopische Befunde

Die Gelenke der Versuchstiere sind normal gestaltet und in ihrer Beweglichkeit nicht eingeschränkt. Sie zeigen keine entzündliche Rötung. Bei keinem Versuchstier läßt sich eine meßbare Dickenzunahme der Gelenke nachweisen.

4,712 Mikroskopische Befunde

Weder im periartikulären Gewebe noch in den Synovialmembranen der untersuchten Pfoten Gelenke lassen sich entzündliche Infiltrate nachweisen.

4,72 Regionäre Lymphknoten

4,721 Makroskopische Befunde

Die poplitealen und inguinalen Lymphknoten sind grauweiß und zeigen keine subkapsulären Blutungen. Sie sind nicht vergrößert. Die inguinalen Lymphknoten sind nicht miteinander verwachsen. Das durchschnittliche Gewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten einer Seite beträgt 30,2 mg mit einer Streuung von $\pm 2,21$ mg. Dieses Durchschnittsgewicht stimmt mit dem Wert überein, der aus den gleichen Lymphknoten von 50 Kontrolltieren ermittelt wurde (Tab. 41)

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Lymphknotengewicht (mg)	$\bar{X} = 28,20$ $s = \pm 4,63$	$\bar{X} = 30,20$ $s = \pm 2,21$

Tab. 41: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe nach intraperitonealer Injektion von inkomplettem FREUNDSchem Adjuvans.

4,722 Mikroskopische Befunde

Das histologische Bild der poplitealen und inguinalen Lymphknoten entspricht zu jeder Zeit nach Injektion dem entsprechender Lymphknoten von Kontrolltieren. Weder sind die Randsinus zellig infiltriert noch sind die Lymphozyten im Rindenbereich in Form von Follikeln angeordnet. In den Sinus läßt sich keine Histiozytose nachweisen. Eine Plasmazellvermehrung zwischen den Sinus tritt ebenfalls nicht auf.

4,73 Milz

Nach intraperitonealer Injektion von inkomplettem FREUNDschem Adjuvans lassen sich keine makroskopisch faßbaren Veränderungen an der Milz feststellen. Das durchschnittliche Milzgewicht entspricht dem, welches aus einer Gruppe von Kontrolltieren ermittelt wurde (Tab. 42).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Milzgewicht (mg)	$\bar{X} = 615,91$ $s = \pm 30,57$	$\bar{X} = 683,60$ $s = \pm 83,98$

Tab. 42: Mittelwerte und Streuungen der Milzgewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe nach intraperitonealer Injektion von inkomplettem FREUNDschem Adjuvans.

Histologisch lassen sich weder in der Kapsel noch im Milzgewebe selbst Veränderungen nachweisen. Die Milzfollikel sind nicht vergrößert. In der roten Pulpa lassen sich nur vereinzelt Blutbildungsherde nachweisen.

4,74 Veränderungen in anderen Organen

4,741 Lungen, Leber, Thymus

Lungen, Leber und Thymus zeigen keine Reaktion auf die intraperitoneale Injektion von inkomplettem FREUNDschem Adjuvans. In keinem der drei Organe lassen sich Fettvakuolen mit Granulozyten und Fibroblasten nachweisen. Es treten weder Rundzellinfiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen noch Granulome aus Epitheloidzellen auf. Das durchschnittliche Thymusgewicht dieser Versuchstiere beträgt 389,70 mg mit einer Streuung von $\pm 47,42$ mg.

4,742 Körpergewicht

Die durchschnittliche Gewichtszunahme der Versuchstiere beträgt pro Tag 1,67 g. Diese Gewichtszunahme entspricht der von Kontrolltieren (Tab. 43).

	Versuchsbeginn	Versuchsende
Körpergewicht (g)	$\bar{X} = 291,20$ $s = \pm 11,95$	$\bar{X} = 338,00$ $s = \pm 17,07$

Tab. 43: Mittelwerte und Streuungen der Körpergewichte zum Zeitpunkt des Versuchsbeginnes und des Versuchsendes.

4,8 Intrapleurale Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans

4,81 Gelenke

4,811 Makroskopische Befunde

Die Gelenke der Versuchstiere sind normal gestaltet. Sie sind völlig frei beweglich und zeigen keine entzündliche Rötung. Bei keinem Versuchstier läßt sich eine meßbare Dickenzunahme der Pfoten-gelenke feststellen.

4,812 Mikroskopische Befunde

Weder im periartikulären Gewebe noch in den Gelenkkapseln und in den Synovialmembranen der untersuchten Pfoten-
lenke lassen sich entzündliche Infiltrate nachweisen.

4,813 Zytologische Untersuchungen an Synovialzellen

Die Membrana synovialis der Kniegelenke der injizierten Ratten besitzt einen einschichtigen geschlossenen Zellverband, der keine Abweichungen von dem entsprechenden in Kapitel 4,113 beschriebenen Zellverband der Membrana synovialis der nicht injizierten Ratte aufweist.

Der zytophotometrisch bestimmte DNS-Gehalt der Zellkerne der Membrana synovialis beider Kniegelenke zeigt, daß 97,93 % dieser Zellkerne einen diploiden DNS-Gehalt (G_1 -Phase) besitzen.

0,40 % befinden sich in der DNS-Synthesephase (S-Phase) und 1,67 % verfügen über einen tetraploiden DNS-Gehalt (G_2 -Phase) (Tab. 44 und Abb. 49a-f).

Diese Werte entsprechen denen, die man bei Versuchstieren findet, deren Membrana synovialis keine Reaktion auf die Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans zeigt (Tab. 3.I.).

Tage nach Injektion	Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt (%)	Zellkerne in der Synthese- phase (%)	Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt (%)
Kontrolltiere	99	1	0
2	97	0	3
4	98	0	2
6	98	0	2
8	99	1	0
10	100	0	0
12	95	1	4
14	98	0	2
16	100	0	0
18	98	2	0
20	96	0	4
22	98	0	2
24	99	0	1
26	97	0	3
28	97	1	2

Tab. 44: Prozentualer Anteil der Zellkerne mit diploidem DNS-Gehalt, der Zellkerne in der Synthesephase und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt in Abhängigkeit von der Zeit nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

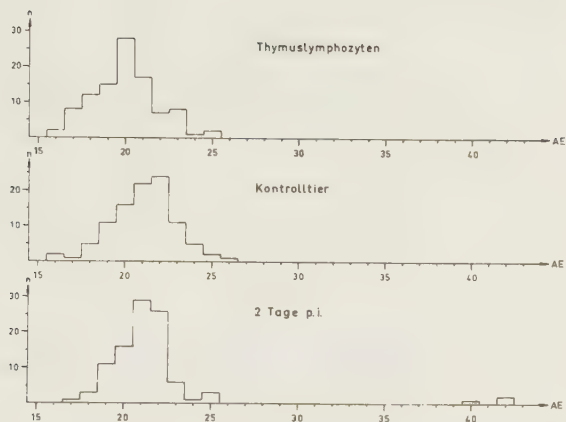


Abb. 49a: Anzahl (n) FEULGEN-gefärbter Zellkerne der Membrana synovialis in Beziehung zu ihrem zytophotometrisch bestimmten DNS-Gehalt und der Zeit nach intrapleuraler Injektion (p.i.) von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. DNS-Gehalt ist in Arbeitseinheiten (AE) notiert. In gleicher weise bestimmte Werte von Thymuslymphozyten dienen als Bezugsgröße für einen diploiden DNS-Gehalt.

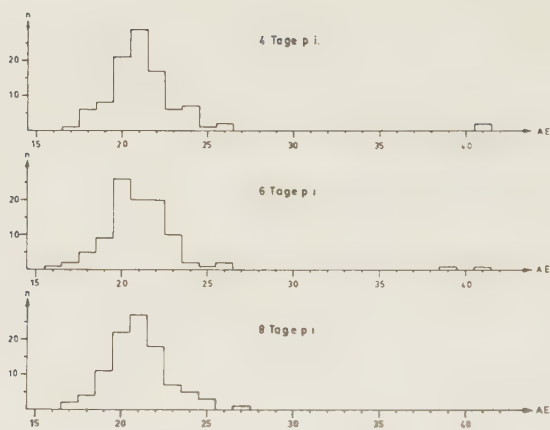


Abb. 49b: Siehe Abb. 49a

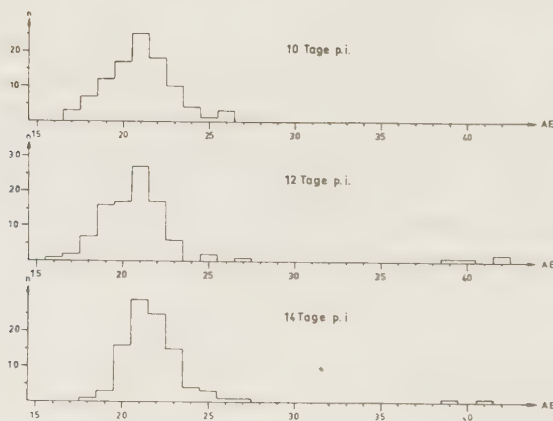


Abb. 49c: Siehe Abb. 49a

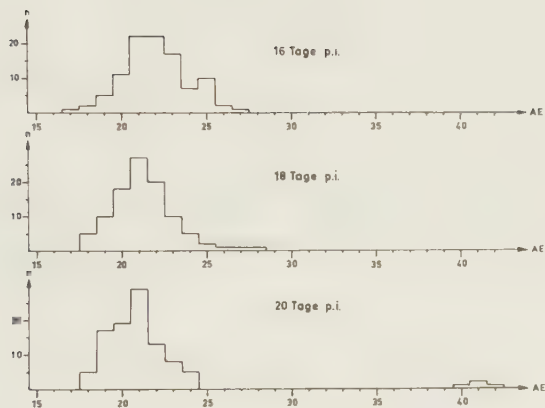


Abb. 49d: Siehe Abb. 49a

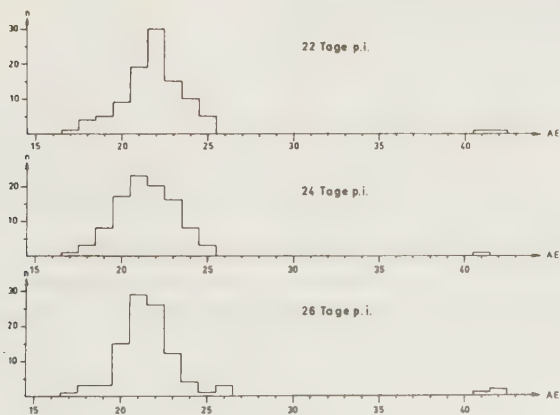


Abb. 49e: Siehe Abb. 49a

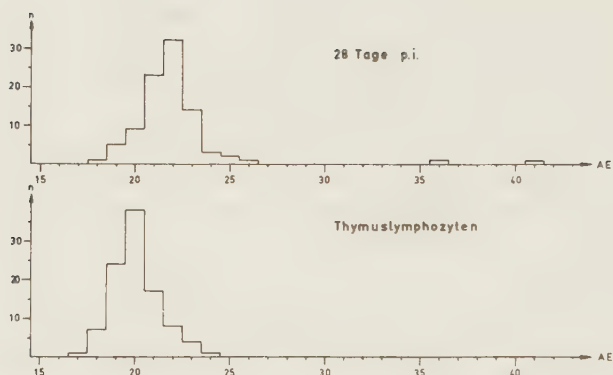


Abb. 49f: Siehe Abb. 49a

4,82 Regionäre Lymphknoten

4,821 Makroskopische Befunde

Die poplitealen und inguinalen Lymphknoten sind grauweiß und besitzen keine subkapsulären Blutungen. Sie sind nicht vergrößert. Die inguinalen Lymphknoten einer Seite sind nicht miteinander verwachsen. Das Durchschnittsgewicht der poplitealen und inguinalen Lymphknoten einer Seite beträgt 26,10 mg mit einer Streuung von $\pm 3,74$ mg. Dieses Durchschnittsgewicht stimmt mit dem Wert überein, der aus den gleichen Lymphknoten von 50 Kontrolltieren ermittelt wurde (Tab. 45).

	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe
Lymphknotengewicht (mg)	$\bar{X} = 28,20$ $s = \pm 4,63$	$\bar{X} = 26,10$ $s = \pm 3,74$

Tab. 45: Mittelwerte und Streuungen der Lymphknotengewichte der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans.

4,822 Mikroskopische Befunde

Das histologische Bild der poplitealen und inguinalen Lymphknoten entspricht zu jeder Zeit nach Injektion dem entsprechenden Lymphknoten von Kontrolltieren. Weder sind die Randsäume zellig infiltriert noch die Lymphozyten im Rindenbereich in Form von Follikeln angeordnet. In den Sinus läßt sich keine Vermehrung von Histiozyten nachweisen. Eine Vermehrung von Plasmazellen zwischen den Sinus tritt ebenfalls nicht auf.

4,83 Milz

4,831 Makroskopische Befunde

Das von einer Kontrollgruppe bestimmte durchschnittliche Milzgewicht beträgt 615,91 mg mit einer Streuung von $\pm 30,57$ mg. Nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans tritt eine allmähliche Zunahme des Milzgewichtes ein. Hierdurch findet man am 22. Tag nach Injektion sowie an den folgenden Tagen Milzgewichte, die den doppelten Wert des Normalgewichtes übersteigen (Abb. 29).

4,832 Mikroskopische Befunde (Zusammenstellung der Befunde
in Tab. 46)

2 Tage nach Injektion erkennt man vergrößerte Milzfollikel, die in ihrem Inneren dicht gelagerte kleine Lymphozyten enthalten. Dieser zentrale Anteil wird umgeben von einem Wall von großen Lymphozyten und Plasmazellen. Zwischen den beiden Bezirken erkennt man oft eine dünne konzentrisch angeordnete Schicht kollagenen Fasergewebes. Ebenfalls 2 Tage nach Injektion tritt eine Verbreiterung des Randsaumes auf. Am 6. Tag nach Injektion erkennt man neben diesen beiden Veränderungen in der roten Pulpa Blutbildungsherde mit Riesenzellen (Megakaryozyten). Diese Veränderungen bleiben mit geringen Schwankungen ihres Ausbildungsgrades bis zum Ende des Versuches erhalten.

Zusätzlich findet man am 24. und am 26. Tag nach Injektion in allen Bezirken der Milz zahlreiche kleine epitheloidzellige Granulome.

Tage nach Injektion	I	II	III	IV
Kontrolltiere	-	-	-	-
2	+	+	-	-
4	+	+	-	-
6	+	+	+	-
8	+	+	+	-
10	+	+	+	-
12	+	+	+	-
14	+	+	+	-
16	+	+	+	-
18	+	+	+	-
20	+	+	+	-
22	+	+	+	-
24	+	+	+	+
26	+	+	+	-
28	+	+	+	+

Tab. 46: Veränderungen in der Milz in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion. I = Vergrößerung der Follikel. II = Verbreiterung des Randsaumes. III = Auftreten von Blutbildungsherden. IV = Auftreten von epitheloidzelligen Granulomen. - = Fehlen, + = Vorhandensein der unter I bis IV beschriebenen Veränderungen.

4,84 Veränderungen in anderen Organen

4,841 Thoraxhöhle

4,8411 Makroskopische Befunde

2 Tage nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans findet man einen klaren bernsteinfarbenen schnell gelierenden Pleuraerguß, in dem bis zu 2 mm im Durchmesser große

weiße Flocken sowie sehr kleine, staubförmige gelbweiße Schwebeteilchen nachweisbar sind. In den Interlobärspalten sowie an der Außenseite des Perikards treten bis zu 4 mm im Durchmesser große grauweiße fetzige Belege auf, die man 4 Tage nach Injektion auch auf der Pleura parietalis sowie an der Thymuskapsel findet. Im Sulcus paravertebralis und auf der thorakalen Seite des Zwerchfelles konfluieren diese Belege. Vereinzelt findet man feinfleckige subpleurale Blutungen sowie feinnetzige subpleurale Gefäßzeichnungen. Der Pleuraerguß und der nun auftretende Perikarderguß sind jetzt klar und leicht rötlich verfärbt. Im Pleuraerguß lassen sich zu dieser Versuchszeit keine Schwebeteilchen mehr nachweisen.

6 Tage nach Injektion tritt eine leichte Vergrößerung und Rötung der mediastinalen Lymphknoten auf. Am Lungenhilus, in der Tiefe der Interlobärspalten, sowie an der Außenseite des Perikards kommt es zur Ausbildung von bis zu 2 mm im Durchmesser großen derben grauweißen Granulomen, die in den folgenden Tagen häufiger werden und eine Größe bis zu 5 mm im Durchmesser erreichen.

Im Sulcus paravertebralis, in den Interlobärspalten, im Spalt zwischen der Facies diaphragmatica der Lungen und dem anliegenden Zwerchfell sowie an der Außenseite des Perikards konfluieren die Granulome zunehmend, wodurch es in diesen Bereichen zu ausgedehnten Verwachsungen kommt. Isolierte Granulome finden sich vor allem an den Lungenrändern, wo sie perlschnurartig aufgereiht sind.

All diese Veränderungen bleiben bis zum Ende des Versuches erhalten. Am 20. Versuchstag sowie an den folgenden Tagen werden Pleura- und Perikarderguß wieder geringer. Am 26. und am 28. Tag nach Injektion ist kein Erguß mehr nachweisbar.

4,8412 Mikroskopische Befunde

Die in der Thoraxhöhle gefundenen Granulome bestehen bis zum 14. Tag nach Injektion aus Fettvakuolen, um die ein Wall dicht gepackter Granulozyten sowie einige Fibroblasten gelagert sind. Mit zunehmendem Abstand von den Fettvakuolen überwiegen die Fibroblasten.

Nach dem 16. Versuchstag erkennt man zusätzlich epitheloid-zellige Granulome, die vom 22. Tag nach Injektion an bis zum Ende des Versuches LANGHANSsche Riesenzellen aufweisen.

4,842 Pleura

Die Pleuradeckzellen nicht injizierter Ratten bilden einen einschichtigen geschlossenen Zellverband aus unregelmäßig geformten Zellen (Abb. 50). Einzelne dieser Zellen besitzen zwei Zellkerne. Die Zellkerne verfügen über ein locker strukturiertes Chromatingerüst. Ihre Nukleolen sind sehr klein und nur vereinzelt nachweisbar. Die Zellgrenzen lassen sich gut versilbern. Dort, wo die Grenzen mehrerer Zellen zusammentreffen, treten kugelige Gebilde auf, die die Form interzellulärer Poren besitzen.

2 Tage nach Injektion findet man eine feinvakuoläre Auflockerung der Zellgrenzen. In anderen Bereichen lassen sich die Zellgrenzen nicht mehr versilbern. Die einzelnen Zellen runden sich ab und verlieren die Verbindung zu ihren jeweiligen Nachbarzellen. Diese voneinander isolierten Zellen besitzen vereinzelt zipflige Ausziehungen ihres Zytoplasmas, wodurch sie das Aussehen von Fibroblasten erhalten. Das Chromatingerüst ihrer Zellkerne tritt deutlich hervor. Gleichzeitig kommt es zur Vergrößerung und Vermehrung der Nukleolen. Vereinzelt erkennt man Kernteilungsfiguren (Abb. 51). Zwischen den Zellen findet man in den entstandenen Lücken Granulozyten, die in anderen Bereichen der Pleura aufgelagert sind. 6 Tage nach Injektion bilden sie vor allem in den Bezirken, in denen der Pleuradeckzellverband noch nicht ganz

aufgelöst ist und die Zellgrenzen noch teilweise versilberbar sind, zusammen mit Fibroblasten der Pleuraoberfläche aufgelagerte Granulome (Abb. 52). In einzelnen Pleuradeckzellen findet man eine massive versilberbare Granulierung. 4 Tage nach Injektion sowie an allen folgenden Versuchstagen treten Makrophagen auf, die sich nicht wesentlich von den stärker abgerundeten Pleuradeckzellen unterscheiden (Abb. 53). Diese Makrophagen werden in den folgenden Tagen immer zahlreicher.

12 Tage nach Injektion lagern sich einzelne Makrophagen zusammen. Dort, wo sie sich berühren, lassen sich ihre Zellgrenzen versilbern (Abb. 54). Diese Entwicklung schreitet in den folgenden Versuchstagen fort, so daß man am 18. Tag nach Injektion sowie an allen folgenden Versuchstagen wieder einen annähernd geschlossenen Pleuradeckzellverband vorfindet, dessen Zellgrenzen sich jedoch nur dort versilbern, wo sich benachbarte Zellen unmittelbar berühren (Abb. 55). Diese Reaktion der Pleura entspricht der des Peritoneums, die FEIGEL (1968) nach peritonealer Reizung beobachten konnte.

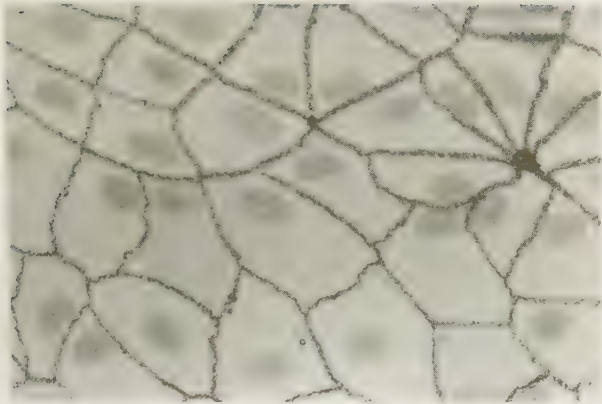


Abb. 50: Häutchenpräparat des Pleuradeckzellverbandes eines Kontrolltieres mit versilberten Zellgrenzen. Am rechten Bildrand erkennt man ein kugeliges Gebilde in Form einer intrazellulären Pore.
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

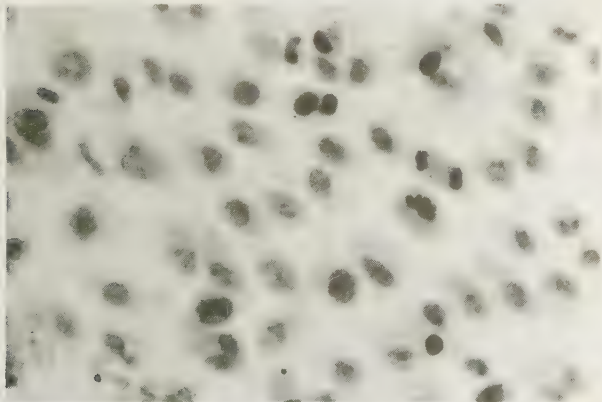


Abb. 51: Pleuradeckzellverband 2 Tage nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. Die Zellen haben sich abgerundet. Die Zellgrenzen sind nicht mehr versilberbar. Die Nukleolen der Zellkerne sind vergrößert. In der Mitte der rechten Bildhälfte erkennt man Kerkteilungsfiguren (Metaphase und Anaphase).
Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

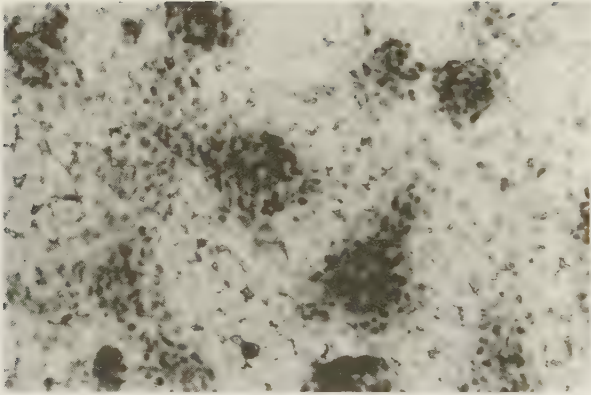


Abb. 52: Pleuradeckzellverband: Der Pleuraoberfläche aufgelagerte Granulome aus Fibroblasten und Granulozyten 6 Tage nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans. Die Zellgrenzen des Pleuradeckzellverbandes sind vakuolig aufgelockert und nur noch teilweise versilberbar.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 220 x

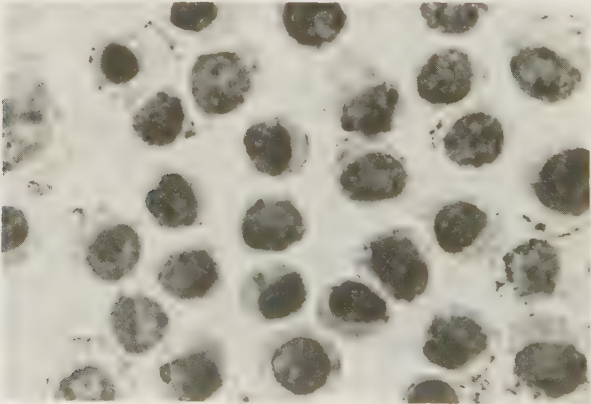


Abb. 53: Makrophagen, die 4 Tage nach intrapleuraler Injektion sowie an den folgenden Tagen anstelle des Pleuradeckzellverbandes vorhanden sind.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 1345 x

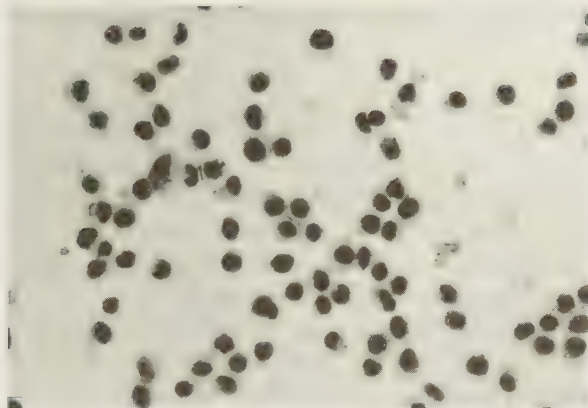


Abb. 54: Einzelne Makrophagen, die anstelle des Pleuradeckzellverbandes vorhanden sind, lagern sich 12 Tage nach intrapleuraler Injektion zusammen. Dort, wo sich unmittelbar benachbarte Makrophagen berühren, sind ihre Zellgrenzen versilberbar.

Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

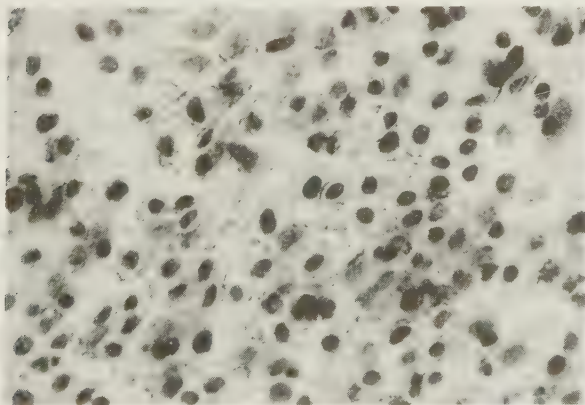


Abb. 55: 18 Tage nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans: Die Makrophagen haben sich stärker zusammengelagert und bilden einen annähernd geschlossenen Pleuradeckzellverband mit versilberbaren Zellgrenzen. Färbung: Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung: 538 x

4,843 Mediastinale Lymphknoten (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 47)

2 Tage nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUND-schem Adjuvans sind in den mediastinalen Lymphknoten die Lymphozyten in Form von Follikeln angeordnet. Diese lassen sich bei Kontrolltieren nicht nachweisen. Sie bestehen aus einem Reaktionszentrum, das von einem Wall dicht gelagerter Lymphozyten umgeben wird. Sie lassen sich bis zum Ende des Versuches nachweisen.

Gleichzeitig findet man in den erweiterten Lymphknotensinus zunächst vereinzelt, in den folgenden Tagen zunehmend häufiger vorkommende Histiozyten.

Am 4. Tag nach Injektion sowie an allen folgenden Tagen des Versuches treten zwischen den Sinus Plasmazellen auf, die vom 12. bis zum 18. Tag nach Injektion besonders zahlreich sind.

Außer diesen Veränderungen findet man am 6., 10. und 12. Tag nach Injektion in der Kapsel dieser Lymphknoten Fettvakuolen, die von einem dichten Wall aus Granulozyten und einigen Fibroblasten umgeben werden. Auch im Randsinus treten Fettvakuolen auf, die jedoch erst nach dem 18. Versuchstag eine deutliche zelluläre Demarkation aus Granulozyten und Fibroblasten besitzen und die sich in den folgenden Tagen vom Randsinus aus breitflächig in die rote Pulpa hinein ausbreiten.

Am 12. Tag nach Injektion lassen sich erstmals epitheloid-zellige Granulome nachweisen, die in den folgenden Tagen zunehmend häufiger werden und am 22. und 26. Versuchstag außer Epitheloidzellen auch LANGHANSsche Riesenzellen enthalten.

Tage nach Injektion	I	II	III	IV	V	VI
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-
2	+	-	(+)	-	-	-
4	+	-	+	+	-	-
6	+	+	+	+	(+)	-
8	+	+	+	+	-	-
10	+	+	+	+	-	-
12	+	++	+	++	(+)	++
14	+	++	+	++	-	-
16	+	+	+	++	(+)	(+)
18	+	+	+	++	+	+
20	+	++	+	+	+	+
22	+	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	+	+
26	+	+	+	+	+	+
28	+	+	+	+	-	+

Tab. 47: Veränderungen in den mediastinalen Lymphknoten in Abhängigkeit von der Zeit nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans.
 I = Formation von Follikeln. II = Erweiterung der Sinus. III = Sinushistiozytose. IV = Auftreten von Plasmazellen zwischen den Sinus. V = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. VI = Epitheloidzellige Granulome. - = Fehlen, (+) = geringe Ausprägung, + = mittelstarke Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis VI beschriebenen Veränderungen.

4.844 Lungen (Zusammenstellung der Befunde in Tab. 48)

Lediglich am 2. und am 24. Tag nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans findet man im Lungengewebe selbst vereinzelt Fettvakuolen, die von Granulozyten und Fibroblasten umgeben werden. Zusätzlich erkennt man 2 Tage nach Injektion periphere peribronchiale Rundzellinfiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen, die bis zum Versuchsende nachweisbar bleiben und die vom 6. bis zum 16. Tag nach Injektion stärker ausgeprägt sind als an den übrigen Versuchstagen.

Außer diesen Veränderungen lassen sich nach dem 24. Versuchstag im Lungengewebe epitheloidzellige Granulome nachweisen, die vereinzelt auch LANGHANSsche Riesenzellen enthalten. In der Pleura findet man von Granulozyten und Fibroblasten umgebene Fettvakuolen, die in den folgenden Tagen bis zum Versuchsende zunehmend zahlreicher und größer werden. In ihrer Nähe erkennt man nach dem 14. Versuchstag epitheloidzellige Granulome, die am 22. Tag nach Injektion sowie an allen folgenden Versuchstagen außer Epitheloidzellen auch Lymphozyten und LANGHANSsche Riesenzellen enthalten.

Am 4. Tag nach Injektion treten ausgedehnte Pleuradeckzellproliferationen auf, die in einzelnen Bereichen herdförmig verdickt sind und bis zum Ende des Versuches nachweisbar bleiben.

Tage nach Injektion	Lungengewebe				Pleura				
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	V
Kontrolltiere	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	-	-	-	-	-	-	-
4	-	+	-	-	-	-	-	-	+
6	-	++	-	-	+	-	-	-	+
8	-	++	-	-	+	-	-	-	+
10	-	++	-	-	++	-	-	-	+
12	-	++	-	-	++	-	-	-	+
14	-	++	-	-	++	-	+	-	+
16	-	++	-	-	++	-	++	-	+
18	-	+	-	-	++	-	++	-	+
20	-	+	-	-	++	-	++	-	+
22	-	+	-	-	++	-	++	++	+
24	+	+	++	+	++	-	++	++	+
26	-	+	++	+	++	-	++	++	+
28	-	+	++	+	++	-	++	++	+

Tab. 48: Veränderungen in den Lungen in Abhängigkeit von der Zeit nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans. I = Fettvakuolen, umgeben von Granulozyten und Fibroblasten. II = Periphere peribronchiale Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen. III = Granulome aus Epitheloidzellen. IV = Granulome aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen. V = Pleuradeckzellproliferation. - = Fehlen, + = geringe Ausprägung, ++ = starke Ausprägung der unter I bis V beschriebenen Veränderungen.

4,845 Leber

6 Tage nach Injektion sowie an allen übrigen Versuchstagen findet man in der Leber mehrere herdförmig angeordnete Rundzellinfiltrate, die aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. Diese Infiltrate treten in erweiterten Sinus auf. Die Zellen der angrenzenden Leberbälkchen sind oft atrophiert, erkennbar an der Pyknose ihrer Zellkerne und der stärkeren Eosinophilie ihres Zytoplasmas.

4,846 Thymus

Am Thymus lassen sich nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans makroskopisch keine Veränderungen nachweisen. Das durchschnittliche Thymusgewicht beträgt 564,60 mg mit einer Streuung von $\pm$ 124,37 mg. Mikroskopisch findet man normal gestaltetes Thymusgewebe. Dagegen erkennt man 6 Tage nach Injektion im angrenzenden Fettgewebe von Granulozyten und Fibroblasten umgebene Fettvakuolen, die bis zum 18. Versuchstag zunehmend häufiger werden. Danach erkennt man zusätzlich epitheloidzellige Granulome, die nach dem 20. Versuchstag außer Epitheloidzellen auch einzelne Lymphozyten und LANGHANSsche Riesenzellen enthalten.

4,847 Körpergewicht

Bei 10 der 14 Versuchstiere findet man eine der Norm entsprechende tägliche Gewichtszunahme von 0,85 - 3,07 g. Ein Versuchstier weist lediglich eine tägliche Gewichtszunahme von durchschnittlich 0,19 g auf, ein weiteres Tier verändert sein Gewicht überhaupt nicht, während 2 Versuchstiere eine tägliche Gewichtsabnahme von durchschnittlich 0,25 g bzw. 0,70 g aufweisen. Diese 4 Tiere gehören zur Gruppe der Versuchstiere, die die stärkste Reaktion auf die intrapleurale

Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans zeigen (Abb. 56).

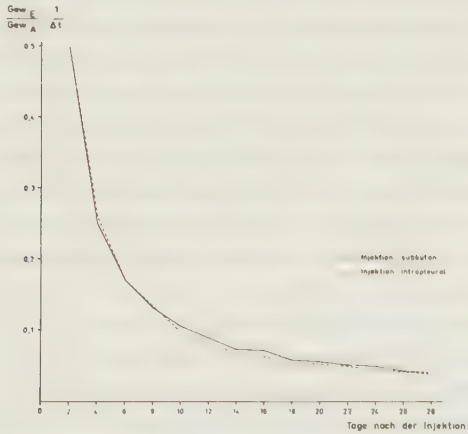


Abb. 56: Verhalten des Körpergewichtes in Abhängigkeit von der Zeit nach intrapleuraler Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans.

Weitere Erklärungen siehe Abb. 35

5.0 Diskussion

Injiziert man komplettes FREUNDsches Adjuvans subkutan in die Fußsohle von Ratten, so kommt es zunächst zu einer entzündlichen Primärreaktion im Bereich der Injektionsstelle. Hierbei treten massenhaft polymorphkernige Granulozyten auf, die sich wallartig um das injizierte Material legen. Daneben findet man vermehrt Fibroblasten. Diese entzündliche Reaktion ist vor allem im subkutanen Binde- und Fettgewebe nachweisbar. Von hier aus breitet sie sich zwischen die angrenzenden Muskelfasern und entlang der Sehnenscheiden bis zum Periost und zum periartikulären Gewebe der Pfortengelenke aus.

10 bis 16 Tage nach Injektion - bei einigen Tieren schon etwas früher - kommt es sowohl an den Gelenken der injizierten als auch an denen der nicht injizierten Pforten zum Auftreten von Sekundärreaktionen. Diese führen über eine Proliferation des gelenknahen Periosts zum Abbau des angrenzenden Knochens und zur Ausbildung eines Markpannus. Gleichzeitig tritt eine erhebliche Proliferation der Zellen der Synovialmembran auf, die über eine Arrosion des Gelenkknorpels zur Entwicklung eines Kapselpannus und später zu fibrösen Ankylosen führt. Bei diesen Reaktionen kommt es zu starken Umbauvorgängen der zerstörten Knochen und Gelenken mit massiver periostaler Knochenneubildung und Auftreten von Knorpelregeneraten in unmittelbarer Nähe der arrodierten Gelenkknorpel.

Die granulozytären Infiltrate der Primärreaktion nehmen mit fortschreitender Versuchsdauer ab. An ihre Stelle treten epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen. Diese Granulombildung findet man ebenso wie die vorausgehenden granulozytären Infiltrate nur an der injizierten Pforte. Im periartikulären Gewebe der nicht injizierten Pforte lassen sich dagegen Lymphozyten- und Plasmazellinfiltrate nachweisen. Diese Reaktionen lassen sich nur an den Pfortengelenken

erkennen, an den großen Gelenken treten dagegen keine makroskopisch oder histologisch faßbaren Veränderungen auf. Bestimmt man jedoch nach vorausgehender FEULGEN-Färbung mit dem integrierenden Mikrodensitometer nach DEELEY (1955) den DNS-Gehalt der Zellkerne der Synovialmembran der Kniegelenke, so findet man eine Zunahme der Zellen, deren Kerne sich in der DNS-Synthesephase (S-Phase) befinden oder sogar über einen tetraploiden DNS-Gehalt (G_2 -Phase) verfügen. Hierbei beobachtet man eine Zunahme der Zellkerne, die sich in der Synthesephase befinden, von 0,5 % auf 7 % und der Zellkerne mit tetraploidem DNS-Gehalt von 2 % auf 18 %. Diese Veränderungen sind als Zeichen einer beginnenden Proliferation von Synovialzellen anzusehen. Kernteilungsfiguren lassen sich jedoch nur in sehr geringer Menge nachweisen. Diese Veränderungen stellen die einzige Reaktion der Kniegelenke und vermutlich auch der übrigen großen Gelenke auf die intraplantare Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans dar. Man darf annehmen, daß die gleichen Veränderungen in den stärker reagierenden Pfotengelenken als Beginn der Sekundärreaktionen auftreten, an die sich dann eine starke Proliferation der Synovialzellen anschließt, die dann zur Gelenkknorpelzerstörung und zur Ausbildung eines Kapselpannus führt.

Die in der Lunge und in der Leber beobachteten epitheloidzelligen Granulome sind sicherlich metastatischen Ursprungs durch Verschleppung des Injektionsmaterials in diese Organe, wenn es sich auch in den Granulomen nicht mehr nachweisen läßt.

Eine metastatische Entstehung der generalisierten Gelenkentzündung auf dem Blutweg kann dagegen bei der Adjuvans-Arthritis nicht angenommen werden. Auch ein direkter Einfluß von Toxinen, die bei der Auseinandersetzung der regionären Lymphknoten mit den hitzegetöteten Bakterien des injizierten FREUNDschen Adjuvans frei werden sollen (AKAMATSU, 1966), ist unwahrscheinlich. Bei diesen Entstehungsformen müßten auch an

den nicht injizierten Pfoten epitheloidzellige Granulome auftreten. Die bei der intraartikulären oder subkutanen Inokulation von Viren auftretenden Gelenkentzündungen, zum Beispiel bei der Übertragung von Psittacosis-Lymphogranuloma-Erregern (STORZ und Mitarb., 1966), beruhen jedoch auf einer direkten Wirkung der Erreger, da diese Gelenkentzündung nur bei Virämie auftritt und die Erreger auch in den nicht injizierten Gelenken nachweisbar sind. Dagegen lassen sich kaum Antikörper nachweisen, die auf den Ablauf eines immunologischen Geschehens hinweisen würden.

Als Entstehungsursache für die Adjuvans-Arthritis muß man dagegen einen immunologischen Prozeß annehmen (WAKSMAN und Mitarb., 1960). So findet man bei chemischen Untersuchungen des Blutes neben der Albuminabnahme und der Zunahme der Alpha-Globuline als Hinweis auf ein entzündliches Geschehen eine erhebliche Vermehrung der Gamma-Globuline und des Kaliums sowie eine Vergrößerung des K/Ca-Quotienten (FORMANEK und Mitarb., 1964; SIKES und Mitarb., 1966). Hierbei findet die Antikörperbildung in den regionären Lymphknoten statt. In diesen Lymphknoten findet man neben dem injizierten Material und einer entzündlichen Reaktion eine massive Ansammlung von Plasmazellen. In diesen Plasmazellansammlungen lassen sich die kleinen Lymphozyten nur noch dicht gedrängt in streifen- und herdförmigen Anordnungen in wenigen Arealen nachweisen. Als Ausdruck der gesteigerten Syntheseleistung dieser Zellen findet man in den regionären Lymphknoten neben einer starken Zunahme des Gesamtgehaltes an DNS, RNS und Polysacchariden vor allem einen Anstieg des Gesamtproteingehaltes auf das 8,5fache der Norm. Der Proteingehalt der Einzelzelle dieser Lymphknoten ist auf das 1,6fache, der RNS-Gehalt auf das 1,5fache und der Polysaccharidgehalt auf das 1,3fache erhöht. Da bei der Berechnung dieser Werte ein diploider DNS-Gehalt aller Einzelzellen von jeweils $6,0 \times 10^{-12}$ g angenommen, als konservativ, das heißt zu Ungunsten des Verfassers

gerechnet wurde, darf man annehmen, daß die tatsächlichen Werte noch größer sind.

Injiziert man die Zellen solcher Lymphknoten subkutan in die Fußsohle von Ratten, die kein FREUNDSches Adjuvans erhielten, so entwickeln auch diese eine Gelenkentzündung (vgl. WAKSMAN und WENNERSTEN, 1963; PEARSON und WOOD, 1964).

Dies gelingt jedoch nur, wenn man die Lymphknoten der Spendertiere, aus denen die zu übertragenden Zellen gewonnen werden, nicht früher als 6 Tage nach Injektion entnimmt. Hierbei entwickeln alle Empfängertiere eine Gelenkentzündung. Werden dagegen die Lymphknoten schon am 4. Tag nach Injektion entnommen und ihre Zellen übertragen, so läßt sich nur bei einem von fünf Empfängertieren eine Gelenkentzündung nachweisen. Dabei findet man in den injizierten Pfoten Lymphozyten- und Plasmazellinfiltrate sowie Histiozyten. Granulozytäre Infiltrate oder epitheloidzellige Granulome treten dagegen nicht auf. In den regionären Lymphknoten erkennt man keine morphologischen Veränderungen, die auf eine Antikörperbildung schließen lassen. Diese ist jedoch auch nicht erforderlich, da sie bereits im Organismus der Spendertiere stattgefunden hat und so mit den Lymphknotenzellen die fertige Information zur Ausbildung einer Arthritis übertragen wird.

Durch Entfernen der regionären Lymphknoten (NEWBOULD, 1964; RYZEWSKA, 1967) läßt sich ebenfalls zeigen, daß die für die Entwicklung der Arthritis notwendigen Antikörper erst nach 6 Tagen nach Injektion gebildet sind. Werden diese Lymphknoten bereits 5 Tage nach intraplantarer Injektion des kompletten FREUNDSchen Adjuvans entfernt, so tritt keine Adjuvans-Arthritis auf. Werden sie dagegen erst 7 Tage nach Injektion entfernt, so kommt es 3 bis 9 Tage später zur Ausbildung einer Arthritis, die sich nicht von dem bekannten Bild der Adjuvans-Arthritis (PEARSON und WOOD, 1959) unterscheidet. Andere lymphatische Organe haben dagegen keinen Einfluß auf die Entstehung der Adjuvans-Arthritis. So wird

dieses Krankheitsbild weder durch eine Thymektomie noch durch eine Splenektomie verändert (vgl. RYZEWSKA, 1967). Auch der zytophotometrisch bestimmte DNS-Gehalt der Zellkerne des Stratum synoviale der Kniegelenke, sowie der Anteil dieser Zellkerne, die sich in der DNS-Synthesephase befinden oder über einen tetraploiden DNS-Gehalt verfügen, unterscheiden sich nicht wesentlich von den entsprechenden Werten nicht splenektomierter Ratten. Die bei den nicht splenektomierten Ratten nach der Injektion dennoch feststellbare geringe Erhöhung des DNS-, RNS-, Polysaccharid- und Proteingehaltes der Milz läßt sich durch die gesteigerte Blutbildung in diesem Organ erklären. Sie ist also kein Zeichen für eine Antikörperbildung. So findet man in der roten Pulpa der Milz viele Blutbildungsherde mit Megakaryozyten.

Der in den regionären Lymphknoten gebildete Antikörper entfaltet seine Wirkung am Bindegewebe, vor allem an dem der Gelenke. Diese hohe Spezifität erkennt man auch an dem zytotoxischen Effekt, den Lymphozyten dieser Lymphknoten an Kulturen von Rattenfibroblasten bewirken (TAREJEW und SURA, 1968). Sie ist jedoch nicht in der Reaktion der regionären Lymphknoten mit dem injizierten Material allein begründet. Injiziert man nämlich das komplette FREUNDsche Adjuvans nicht in die Pfote sondern subkutan im Bereich des Stammes, so tritt keine Veränderung auf. Bei der intrapleurale oder der intraperitoneale Injektion kommt es zwar zur massiven Ausbildung von derbem Granulationsgewebe aus Epitheloidzellen und LANGHANSschen Riesenzellen, eine Adjuvans-Arthritis läßt sich dagegen nicht nachweisen. Zwar kann man in den mediastinalen und mesenterialen Lymphknoten eine massive Ansammlung von Plasmazellen nachweisen, der von diesen gebildete Antikörper ruft jedoch keine Arthritis hervor, er ist nicht spezifisch gegen das Bindegewebe der Gelenke gerichtet. Für ihn läßt sich innerhalb von 28 Tagen nach Injektion kein eindeutiges Erfolgsorgan erkennen, denn die

Veränderungen in diesen beiden Körperhöhlen, die wir nach der Injektion beobachten, sind ausschließlich Primärreaktionen auf die Injektion. Anzeichen für eine Sekundärreaktion lassen sich dagegen nicht erkennen.

Die hohe Spezifität des bei der intraplantaren Injektion gebildeten Antikörpers wird nur dann verständlich, wenn man annimmt, daß am Ort der Injektion ein Komplex aus dem kompletten FREUNDschen Adjuvans und dem dort vorhandenen Bindegewebe entsteht. FORMANEK und Mitarb. (1964) nehmen an, daß durch die Entzündung am Ort der Injektion und zwar durch den hierbei auftretenden Temperaturanstieg und die pH-Abnahme das unlösliche fibrillär-aggregierte Kollagen in lösliches Kollagen umgewandelt wird. Damit ist die Voraussetzung geschaffen, daß sich das komplette FREUNDsche Adjuvans mit dem Kollagen zu einem Reaktionsprodukt verbindet, das dann als Antigen wirkt, in die regionären Lymphknoten gelangt und hier die Antikörperbildung hervorruft. Da hierzu mindestens 6 Tage erforderlich sind und die Adjuvans-Arthritis erst zwischen dem 10. und 16. Tag nach Injektion auftritt, liegt eine immunologische Reaktion vom verzögerten Typ vor. Dabei reagiert der gebildete Antikörper nicht nur mit dem löslichen Kollagen sondern auch mit dem nativen, also unlöslichen fibrillären Kollagen der Gelenke.

Obgleich wir sowohl bei jugendlichen Ratten, die nicht älter als 5 Wochen sind und bei Ratten, bei denen experimentell durch Beta-Aminopropionitril oder Aminoacetonitril ein Lathyrismus erzeugt wurde (STEFFEN und Mitarb., 1965), vermehrt lösliches Kollagen finden, tritt bei diesen Ratten dennoch nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans keine Arthritis auf. Wir müssen deshalb annehmen, daß das bei jugendlichen Ratten vorhandene lösliche Kollagen und das beim Lathyrismus auftretende lösliche Kollagen nicht identisch sind mit dem löslichen Kollagen, das sich bei der Entzündung entwickelt oder aber, daß als

Reaktionspartner für das FREUNDsche Adjuvans am Injektionsort eine andere Bindegewebskomponente in Frage kommt. Das gleiche Bild der Arthritis entsteht auch, wenn man Kaninchen nach vorausgegangener Sensibilisierung durch subkutane Injektion von Pferdeserum dieses Serum intraartikulär injiziert (KLINGE, 1929, 1929, 1931; KLINGE und FRICKE, 1931; VAUBEL, 1931; KLINGE, 1934). Auch hierbei werden sicherlich lösliche Bindegewebskomponenten am Ort der Zweitinjektion gebildet, die dem injizierten Material seine spezifischen antigenen Eigenschaften verleihen. Bei dieser experimentell erzeugten Arthritis tritt jedoch noch zusätzlich ein Gefäßprozeß auf, der zur perivaskulären fibrinoiden Nekrose mit Knötchenbildung führt.

Nimmt man als Bestandteil des FREUNDschen Adjuvans lebende Mykobakterien (ENGBAEK und Mitarb., 1968) so findet man neben den arthritischen Veränderungen zusätzlich Tuberkel mit zentralen Verkäsungen und nur vereinzelt LANGHANSsche Riesenzellen.

Das Auftreten der Adjuvans-Arthritis kann unterdrückt werden, wenn man innerhalb von 5 Tagen nach Injektion die regionären Lymphknoten entfernt (NEWBOULD, 1964) und damit die Antikörperbildung verhindert oder aber, indem man die entzündliche Reaktion hemmt, die zum Auftreten der notwendigen löslichen Bindegewebskomponente führt. Hierzu ist Östron, dagegen nicht Progesteron geeignet (TOIVANEN, 1967). Die von MUELLER und KAPPAS (1964) getroffene Feststellung, daß der Einfluß des Östrons vor allem auf eine immunsuppressori-sche Wirkung zurückzuführen sei, ist dagegen unwahrscheinlich. Eine antiphlogistische Wirkung und damit die Fähigkeit, die Intensität der Adjuvans-Arthritis abzuschwächen oder ihr Auftreten zu verhindern, besitzen auch Epsilon-Aminocapronsäure und 6-Merkaptopurin (TOIVANEN und Mitarb., 1964) sowie Hydrocortison und einige Glyzerrhetinsäurederivate (TANGRI und Mitarb., 1965). Die Wirkung dieser Substanzen beruht darauf, daß sie zelluläre Membranen abdichten,

vor allem die von Lysosomen und so die Freisetzung von entzündungsfördernden Enzymen verhindern. Auch Statolon, das eine Interferonbildung induziert, hemmt die Ausbildung einer Adjuvans-Arthritis (KAPUSTA und MENDELSON, 1967).

Ob aus dieser Beobachtung eine zusätzliche Beteiligung von Viren am Zustandekommen der Adjuvans-Arthritis angenommen werden darf, erscheint jedoch fraglich.

Obwohl Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204) in den Lysosomen gespeichert wird (FETZER, 1967), die lysosomalen Membranen stabilisieren, eine Freisetzung entzündungsvermittelnder Enzyme blockieren (WIRTH, 1967) und so eine antiphlogistische Wirkung besitzen soll (SCHLIPKÖTER und BROCKHAUS, 1961), läßt sich bei der Beurteilung der Primär- und später der Sekundärreaktion der Adjuvans-Arthritis bei Vorbehandlung mit P 204 keine Veränderung gegenüber den nicht vorbehandelten Tieren feststellen. Während durch die Vorbehandlung mit P 204 der zytopathische Effekt von Quarzstaub unterdrückt und die Ausbildung einer Silikose verhindert werden kann (SCHLIPKÖTER und BROCKHAUS, 1961; BECK und Mitarb. 1963), wird die Ausbildung der epitheloidzelligen Granulome, die nach intraplanter Injektion von komplettem FREUNDschem Adjuvans in Lunge und Leber auftreten und die ihre Existenz der gleichen zellulären Reaktion wie die Silikose verdanken, dagegen nicht verhindert. Man findet lediglich nach der Vorbehandlung mit P 204 in der Leber, der Milz und den regionalen Lymphknoten Nekrosen, sowie eine Besiedlung des Darmes mit Würmern (Nematoden). Diese Organe gehören zu denen, die das Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204) am stärksten speichern (BECK und Mitarb., 1965; GRUNDMANN, 1967).

6.0 Zusammenfassung

Nach der subkutanen Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans in die Fußsohle von Ratten kommt es zunächst am Ort der Injektion zu einer entzündlichen Reaktion, die aus einer massiven Ansammlung von Granulozyten besteht, an deren Stelle später epitheloidzellige Granulome mit LANGHANSschen Riesenzellen treten.

Zwischen dem 10. und 16. Tag nach Injektion erkennt man auch an den nicht injizierten Pfoten eine zunehmend stärker werdende Gelenkentzündung, die über eine Zellproliferation des gelenknahen Periostes und der Synovialzotten zur Ausbildung von Mark- und Kapselpannus führt. Der Markpannus bewirkt eine erhebliche Zerstörung des gelenknahen Knochens mit anschließender periostaler Knochenneubildung, während durch den Kapselpannus der Gelenkknorpel erheblich arrodiiert wird. In unmittelbarer Nähe des geschädigten Knorpels lassen sich Knorpelregenerate nachweisen. Am Ende des Versuches kommt es vereinzelt zur Ausbildung fibröser Ankylosen. Die Latenzzeit zwischen der Injektion und dem Auftreten der Adjuvans-Arthritis sowie histologische und chemische Untersuchungen der regionären Lymphknoten zeigen, daß dieser Form der experimentell erzeugten Arthritis ein immunologisches Geschehen zugrunde liegt, wobei die arthritiserzeugenden Antikörper in den regionären Lymphknoten gebildet werden. Die gleichen Untersuchungen lassen in der Milz lediglich eine gesteigerte Blutbildung erkennen, während der Thymus keine Reaktion zeigt. Die Bedeutung der regionären Lymphknoten läßt sich auch dadurch zeigen, daß man durch Übertragung von intakten Zellen dieser Lymphknoten auf unbehandelte Tiere bei diesen Empfängertieren eine Gelenkentzündung erzeugen kann. Dies gelingt jedoch nur dann eindeutig, wenn die Zellen erst 6 Tage nach intraplantarer Injektion von komplettem FREUNDSchem Adjuvans den Spendertieren entnommen werden. Während bei der subkutanen Injektion von

komplettem FREUNDschem Adjuvans im Bereich des Rückens überhaupt keine Veränderungen nachweisbar sind, tritt nach intrapleuraler oder intraperitonealer Injektion des gleichen Materials eine starke entzündliche Reaktion auf, die eine granulozytäre Reaktion darstellt, an deren Stelle später epitheloidzellige Granulome und LANGHANSsche Riesenzellen treten. Nach diesen Injektionen läßt sich ebenfalls in den regionären, also in den mediastinalen und mesenterialen Lymphknoten Anzeichen einer zellulären immunpathologischen Reaktion nachweisen, ohne daß sich jedoch ein Erfolgsorgan finden läßt, das unter dem Einfluß der hierbei gebildeten Antikörper gestanden haben könnte. Nie tritt jedenfalls bei diesen Applikationsorten eine Arthritis auf, so daß der Applikationsort eine entscheidende Bedeutung für die Entstehung der generalisierten Arthritis (Sekundärreaktion) besitzt.

7.0 Literaturverzeichnis

AKAMATSU, Y.

Adjuvant induced polyarthritis in rats - its histogenesis

Acta Path. Jap. 16, 131 - 140 (1966)

BECK, E.G., H. ANTWEILER und E. SCHILLER

Morphologische, funktionelle und biochemische Untersuchungen über die Wirkung von Polyvinylpyridin-N-oxid

Beitr. Silikose-Forsch. S-Bd Grundfragen Silikoseforsch. 6, 233 - 244 (1965)

BECK, E.G., J. BRUCH und A. BROCKHAUS

Die Beeinflussung der cytotoxischen Quarzwirkung an Mäusefibroblasten (strain L) durch Polyvinylpyridin-N-oxid (P 204)

Naturwissenschaften 50, 306 (1963)

BURTON, K.

The relation between the synthesis of desoxyribonucleic acid and the synthesis of protein in the multiplication of bacteriophage T 2

Biochem. J. 61, 473 - 483 (1955)

CERIOTTI, G.

Determination of nucleic acids in animal tissues

J. biol. Chem. 214, 59 - 70 (1955)

ENGBAEK, H.C., A. JESPERSEN, D. FABER and D.W. WILL

The pathology of joint disease in rabbits produced by atypical mycobacteria and m. avium

Acta tub. pneum. scand. 44, 199 - 218 (1964)

FEIGEL, H.W.

Untersuchungen zur Regeneration von Peritonealdeckzellen in Abhängigkeit vom Lebensalter
Inaugural-Disseration im Druck-Gießen 1968

FETZER, J.

Speicherung von Polyvinylpyridin-N-oxid in Lysosomen
Naturwissenschaften 54, 518 - 519 (1967)

FEULGEN, R. und H. ROSSENBECK

Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 135, 203 - 248 (1924)

FORMANEK, K., M. ROSAK und C. STEFFEN

Weitere Untersuchungen über die experimentelle Adjuvans-Arthritis der Ratte
Int. Arch. Allergy 24, 39 - 59 (1964)

GRAUMANN, E.

Zur Standardisierung des SCHIFF'schen Reagenz
Zschr. wiss. Mikrosk. 61, 225 - 226 (1952/53)

GRUNDMANN, E.

Experimentelle Untersuchungen über die zelluläre Speicherung des Polyvinylpyridin-N-oxids
Fortschr. Staublungenforsch. 2, 223 - 229 (1967)

KAPUSTA, M.A. and J. MENDELSON

Inhibition of adjuvant arthritis by statolon
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 126, 496 - 499 (1967)

KLINGE, F.

Experimentelle Untersuchungen über die gewebliche
Überempfindlichkeit der Gelenke (zur Pathogenese
des Rheumatismus).

Verh. Dtsch. Path. Ges. 13 - 20 (1929)

KLINGE, F.

Die Eiweißüberempfindlichkeit (Gewebsanaphylaxie)
der Gelenke. Experimentelle pathologisch-anatomische
Studie zur Pathogenese des Gelenkrheumatismus.

Beitr. path. Anat. 83, 186 - 216 (1929)

KLINGE, F.

Experimentelle Erzeugung von Arthritis deformans.

Verh. Dtsch. Path. Ges. 216 - 225 (1931)

KLINGE, F.

Über Gelenksteife im Hyperergieversuch; (experimen-
telle Arthritis ankylopeotica).

Verh. Dtsch. Path. Ges. 164 - 184 (1934)

KLINGE, F. und G. FRICKE

Experimentelle Untersuchungen über anaphylaktische
Entzündung der Gelenke.

Krankheitsforschung 9, 82 - 96 (1931)

LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL

Protein measurement with the folin phenol reagent

J. biol. Chem. 193, 265 - 275 (1951)

MITTENECKER, E.

Planung und statistische Auswertung von Experimenten

Wien: Deuticke 1960

MUELLER, M.N. and A. KAPPAS

Estrogen pharmacology. II. Suppression of experimental
immune polyarthritis

Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 117, 845 - 847 (1964)

NEWBOULD, B.B.

Role of lymph nodes in adjuvant-induced arthritis
in rats

Ann. Rheum. Dis. 23, 392 - 396 (1964)

PEARSON, C. and F. WOOD

Studies of polyarthritis and other lesions induced
in rats by injection of mycobacterial adjuvant.

I. General clinical and pathologic characteristics
and some modifying factors

Arthr. Rheum. 2, 440 - 459 (1959)

PEARSON, C. and F. WOOD

Passive transfer of adjuvant arthritis by lymph node
or spleen cells

J. Exper. Med. 120, 547 - 560 (1964)

RYZEWSKA, A. G.

Influence of lymphatic tissue on the development of
adjuvant-induced polyarthritis in rats

Ann. Rheum. Dis. 26, 506 - 516 (1967)

SCHLIPKÖTER, H.-W. and A. BROCKHAUS

Die Hemmung der experimentellen Silikose durch sub-
cutane Verabreichung von Polyvinylpyridin-N-Oxyd

Klin. Wschr. 39, 1182 - 1189 (1961)

SEIFTER, S., S. DAYTON, B. NOVIC and E. MUNTWYLER

The estimation of glycogen with the anthrone reagent

Arch. Biochem. 25, 191 - 200 (1950)

SIKES, D., O. FLETCHER and E. PAPP

Experimental production of pannus in a rheumatoid-like arthritis of swine

Amer. J. Vet. Res. 27, 1017 - 1025 (1966)

STEFFEN, C., K. FORMANEK und R. TIMPL

Hemmung der Adjuvans-Arthritis durch Lathyrismus
Z. Immunitäts- und Allergieforschung

128, 451 - 467 (1965)

STORZ, J., J.L. SHUPE, R.A. SMART and R. W. THORNLEY

Polyarthritis of calves: Experimental induction by
a Psittacosis agent

Amer. J. Vet. Res. 27, 987 - 995 (1966)

TANGRI, K.K., P.K. SETH, S.S. PARMAR and K.P. BHARGAVA

Biochemical study of anti-inflammatory and anti-arthritis properties of glycyrrhetic acid

Biochem. Pharmac. 14, 1277 - 1281 (1965)

TAREJEW, E.M. and W.W. SURA

Die "Adjuvans-Krankheit" und einige Probleme der
Pathogenese des Lupus erythematosus disseminatus
Dtsch. Gesundh. Wes. 23, 1057 - 1062 (1968)

TOIVANEN, P., J. L. KALLIOMÄKI, H.A. SAARIMAA and A. TOIVANEN

Antimycobacterial humoral antibodies in rats with
adjuvant arthritis

Acta path. microbiol. scand. 61, 655 - 656 (1964)

TOIVANEN, P., K. MÄÄTTÄ, R. SUOLANEN and R. TYKKYLÄINEN

Effect of estrone and progesterone on adjuvant
arthritis in rats

Med. Pharmacol. exp. 17, 33 - 42 (1967)

VAUBEL, E.

Die Eiweißüberempfindlichkeit (Gewebshyperergie) des Bindegewebes. (II. Teil) Experimentelle Untersuchungen zur Erzeugung des rheumatischen Gewebsschadens im Herzen und in den Gelenken.

Beitr. path. Anat. 89, 375 - 418 (1932)

WAKSMAN, B.H., C. PEARSON and J. SHARP

Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant.

II. Evidence that the disease is a disseminated immunological response to exogenous antigen

J. Immunol. 85, 403 - 417 (1960)

WAKSMAN, B.H. and C. WENNERSTEN

Passive transfer of adjuvant arthritis in rats with living lymphoid cells of sensitized donors

Int. Arch. Allergy 23, 129 - 139 (1963)

WIRTH, W., G. JUNGE-HÜLSING, H. THEMANN und H. WAGNER

Beitrag zur pharmakologischen Beeinflussung der Entzündung. Die Wirkung von Poly-2-vinylpyridin-N-oxid (P 204) auf Entzündungsreaktionen

Med. Welt 50, 3069 - 3074 (1967)

Herrn Professor Dr. G. Beneke, der während der Durchführung dieser Arbeit kommissarischer Direktor des Pathologischen Instituts der Justus Liebig-Universität war, gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung sowie für die guten Arbeitsmöglichkeiten, die er mir in dem von ihm geleiteten Institut gewährte.

8,0 Lebenslauf

Am 4.3.1941 wurde ich als drittes Kind des Stabsintendanten Heinz Wilhelm Nohl und seiner Ehefrau Annemarie, geb. Roßbach, in Wetzlar geboren.

Im Herbst 1947 wurde ich eingeschult. Nach viereinhalb-jähriger Grundschulzeit besuchte ich von 1952 bis 1961 die Goethe-Schule, ein Gymnasium in Wetzlar. An dieser Schule war ich in den letzten drei Jahren Schüler des mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweiges.

Nach bestandener Reifeprüfung studierte ich zunächst zwei Semester Psychologie an der Philipps-Universität in Marburg.

Im Sommersemester 1962 begann ich mein Medizinstudium an der Justus Liebig-Universität in Gießen. Hier bestand ich im Frühjahr 1963 die naturwissenschaftliche und im Herbst 1964 die ärztliche Vorprüfung, sowie am 25.1.1968 das medizinische Staatsexamen.

Vom 1.3.1968 bis zum 30.11.1968 arbeitete ich als Medizinalassistent am Pathologischen Institut der Justus Liebig-Universität in Gießen. Seit dem 1.12.1968 bin ich als Medizinalassistent an der Frauenklinik der gleichen Universität tätig.

